

GERSON AZULIM MÜLLER

**ECOLOGIA DOS SABETHINI (DIPTERA: CULICIDAE) DO BIOMA MATA
ATLÂNTICA**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Entomologia, do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Mário Antônio Navarro da Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Brisola Marcondes

**Curitiba
2012**

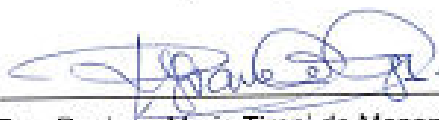
GERSON AZULIM MÜLLER

"ECOLOGIA DOS SABETHINI (DIPTERA: CULICIDAE) DO BIOMA MATA
ATLÂNTICA"

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em
Ciências, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de
Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela
Comissão formada pelos professores:



Prof. Dr. Mário Antonio Navarro da Silva (Orientador)
(UFPR)



Dra. Regiane Maria Tironi de Menezes
(SUCEN/SP)



Dra. Raquel Miranda Gleiser
(Universidade de Córdoba/Argentina)



Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino
(UFPE)



Profa. Dra. Cibela Stramare Ribeiro-Costa
(UFPR)

Curitiba, 28 de fevereiro de 2012.

**Dedico este trabalho à memória
de meu avô Gentil Azulim**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por retirar os pesados fardos que eu levava em minha mente e em meu coração.

À Jandha, minha esposa, pelo amor, carinho, apoio e encorajamento.

Aos meus pais, Jorge Juarez Müller e Solange Azulim Müller, à minha avó Ella Azulim, e à minha irmã Livia Azulim Müller, pelo incentivo, amor, e pelo apoio durante toda a minha formação escolar e acadêmica.

A toda minha família e “agregados”.

Aos meus amigos de curta e longa data, que em diferentes momentos da minha vida estiveram sempre presentes.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Carlos Brisola Marcondes, pela amizade, pelo exemplo, e pela contribuição e influência na minha formação como pesquisador na área da entomologia médica e como professor.

Ao meu orientador Prof. Dr. Mario Antônio Navarro da Silva, pela confiança depositada em mim, e pela valiosa orientação durante esses últimos seis anos.

À Dra. Adriana Lacerda Twerdochilib por me ajudar e ensinar os procedimentos de biologia molecular.

Ao Prof. Dr. Francisco de Assis Marques do Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná, e ao Dr. Cesar Antônio Lenz do Instituto de Tecnologia do Paraná, pelo auxílio e execução das análises dos compostos químicos presentes no conteúdo aquático dos internódios de bambus.

Ao Sr. Aristides Fernandes da Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, pela confirmação das identificações de alguns exemplares de Culicidae.

Ao Sr. Silvânio Guilherme da Costa pelo auxílio nas saídas de campo na Unidade de Conservação Ambiental Desterro.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Entomologia Médica da Universidade Federal do Paraná, Ana Caroline “Anita”, Betina, Débora, Josiane Mário, Oscar, Rodrigo, e Vinicius. Também aos antigos colegas, Eduardo Kuwabara e Jonny.

Aos meus colegas e amigos do Laboratório de Entomologia Médica da Universidade Federal de Santa Catarina, Marco “Tiri” e Mariana.

Aos colegas antigos e atuais do Programa de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal do Paraná.

Ao Prof. Dr. Valdir de Queiroz Balbino e todos os seus orientandos pelos ensinamentos e ajuda durante o tempo que passei em Recife-PE.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Entomologia da Universidade Federal do Paraná.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS.....	xvii
RESUMO.....	xx
ABSTRACT.....	xxii
INTRODUÇÃO GERAL.....	23
REFERÊNCIAS.....	28

CAPÍTULO I

Relação entre fatores temporais, espaciais e de atratividade e a fauna de Culicidae (Diptera) do bioma Mata Atlântica

RESUMO.....	33
ABSTRACT.....	35
INTRODUÇÃO.....	36
OBJETIVOS.....	44
MATERIAL E MÉTODOS.....	45
Área de estudo.....	45
Métodos de amostragem.....	47
Identificação dos Culicidae.....	49
Análise dos dados.....	49
RESULTADOS.....	51
Composição da comunidade de Culicidae.....	51
Distribuição temporal da comunidade de Culicidae.....	53
Distribuição espacial e preferência por hospedeiro da comunidade de Culicidae.....	64
DISCUSSÃO.....	75
CONCLUSÕES.....	84
REFERÊNCIAS.....	85

CAPÍTULO II

Relações genéticas e preferência por locais de oviposição de populações de *Sabethes aurescens* Lutz, 1905 (Diptera: Culicidae)

RESUMO.....	99
ABSTRACT.....	100
INTRODUÇÃO.....	101
OBJETIVOS.....	108
MATERIAL E MÉTODOS.....	109
Relações genéticas do gene COI do DNA mitocondrial de populações de <i>Sabethes aurescens</i>	109
Obtenção dos espécimes.....	109
Procedimentos em laboratório.....	112
Extração do DNA.....	112
Reação de amplificação.....	113
Purificação dos produtos de PCR e seqüenciamento nucleotídico.....	114
Análise das seqüências.....	114
Análises de polimorfismo molecular.....	115
Diversidade genética.....	115
Testes de neutralidade.....	115
Análise de variância molecular (AMOVA).....	116
Estruturação das populações.....	116
Isolamento por distância.....	117
Análises dos haplótipos.....	117
Seleção do habitat para oviposição de <i>Sabethes aurescens</i> em resposta à presença de larvas coespecíficas e heteroespecíficas.....	118
Área de estudo.....	118
Procedimentos para a obtenção das larvas.....	119
Procedimentos de campo e desenho experimental.....	121
Análises estatísticas.....	123
Identificação de compostos químicos voláteis presentes na água dos	

internódios de bambu.....	124
Obtenção das amostras.....	124
Análise química das amostras.....	124
Preparação das amostras (Pré-análise).....	124
Procedimentos para a análise das amostras.....	125
Identificação-tentativa dos compostos químicos das amostras.....	126
RESULTADOS.....	127
Relações genéticas do gene COI do DNA mitocondrial de populações de <i>Sabethes aurescens</i>	127
Seleção do habitat para oviposição de <i>Sabethes aurescens</i> em resposta a presença de larvas coespecíficas e heteroespecíficas.....	137
Análise de compostos químicos presentes nos internódios de bambus.....	138
DISCUSSÃO.....	143
CONCLUSÕES.....	152
REFERÊNCIAS.....	154

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Localização da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (A) na Ilha de Santa Catarina (B), Estado de Santa Catarina (C), Brasil (D).....	46
Figura 2. Área de floresta secundária localizada na Unidade de Conservação Ambiental Desterro, Ilha de Santa Catarina, Brasil, onde os adultos de Culicidae foram capturados. A: Vista geral do sub-bosque da mata. B: Vista geral do dossel da mata.....	47
Figura 3. Armadilhas tipo CDC miniatura utilizadas para a captura de Culicidae entre março de 2009 a janeiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. A: Armadilha CDC instalada no dossel da mata. B: Armadilha CDC instalada no sub-bosque da mata.....	48
Figura 4. Abundância total de Culicidae coletados, considerando o gênero, entre março de 2009 e fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	53
Figura 5. Abundância média de Culicidae capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	55
Figura 6. Curva do coletor calculada para as coletas de Culicidae realizadas entre março de 2009 e fevereiro de 2010 em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	56
Figura 7. Abundância média de <i>Sabethes purpureus</i> capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	57
Figura 8. Abundância média de <i>Runchomyia humboldti</i> capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	57
Figura 9. Abundância média de <i>Wyeomyia pilicauda</i> capturados nas	

estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	58
Figura 10. Abundância média de <i>Anopheles cruzii</i> capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	58
Figura 11. Abundância média de <i>Runchomyia reversa</i> capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	59
Figura 12. Abundância média de Culicidae capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 e fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	61
Figura 13. Abundância média de <i>Sabethes purpureus</i> capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 e fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	62
Figura 14. Abundância média de <i>Anopheles cruzii</i> capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	62
Figura 15. Abundância média de <i>Wyeomyia pilicauda</i> capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	63
Figura 16. Abundância média de <i>Runchomyia humboldti</i> capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	63
Figura 17. Abundância média de <i>Runchomyia reversa</i> capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	64
Figura 18. Abundância de Culicidae capturados com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	67
Figura 19. Abundância de Culicidae capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-	

bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.....	68
Figura 20. Abundância de <i>Sabethes purpureus</i> capturados com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	69
Figura 21. Abundância de <i>Sabethes purpureus</i> capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.....	69
Figura 22. Abundância de <i>Wyeomyia pilicauda</i> capturadas com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	70
Figura 23. Abundância de <i>Wyeomyia pilicauda</i> capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.....	70
Figura 24. Abundância de <i>Anopheles cruzii</i> capturados com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	71
Figura 25. Abundância de <i>Runchomyia humboldti</i> capturados com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	72
Figura 26. Abundância de <i>Runchomyia reversa</i> capturadas com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009	

a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	72
Figura 27. Abundância de <i>Anopheles cruzii</i> capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.....	73
Figura 28. Abundância de <i>Runchomyia humboldti</i> capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.....	73
Figura 29. Abundância de <i>Runchomyia reversa</i> capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.....	74

CAPÍTULO II

Figura 1. Localização dos pontos amostrais onde foram coletadas as populações de <i>Sabethes aurescens</i> . (A) Mapa do Brasil. (B) Detalhe da região onde foram estabelecidos os pontos de amostragem: LP: Parque Lagoa do Peri, ML: Morro da Lagoa da Conceição, PA: Bairro Pantanal, UC: Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e SA: Santo Amaro da Imperatriz.....	110
Figura 2. Procedimentos de coletas de imaturos de <i>Sabethes aurescens</i> . A: Perfuração lateral de internódios de bambu. B: Corte dos internódios de bambu. C: Transferência do conteúdo aquático para uma bandeja plástica. D: Armazenamento do conteúdo aquático em frascos plásticos.....	111
Figura 3. A: Vista geral da mata da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC). B: Em detalhe, o bambual onde o presente estudo foi realizado.....	119
Figura 4. A: Perfurações realizadas nos internódios de bambu. B: Perfuração maior tapada com fita adesiva. C: Potes plásticos utilizados para o transporte e acondicionamento do material colocado e retirado dos internódios de bambu. D: Retirada do material dos internódios de bambu com o emprego de um sifão de sucção.....	123
Figura 5. Visualização em gel de agarose 1% dos produtos de PCR do gene citocromo c oxidase I dos espécimes de <i>Sabethes aurescens</i> provenientes das populações de: LP: Parque Lagoa do Peri, ML: Morro da Lagoa da Conceição, PA: Bairro Pantanal, UC: Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e SA: Santo Amaro da Imperatriz. M: marcador de massa molecular ladder, e N: controle negativo.....	128
Figura 6. Rede de haplótipos do gene COI observada para as amostras de <i>Sabethes aurescens</i> capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.....	130

Figura 7. Análise de similaridade (Bray-Curtis) com base na composição haplotípica para as populações de <i>Sabethes aurescens</i> capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. LP: Parque Lagoa do Peri, ML: Morro da Lagoa da Conceição, PA: Bairro Pantanal, UC: Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e SA: Santo Amaro da Imperatriz.....	131
Figura 8. Gráfico de regressão de Mantel para as cinco populações de <i>Sabethes aurescens</i> com a utilização do <i>Fst</i> par a par.....	135
Figura 9. Gráfico de regressão de Mantel para três populações de <i>Sabethes aurescens</i> com a utilização do <i>Fst</i> par a par. Populações da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC), Morro da Lagoa da Conceição (ML), e Bairro Pantanal (PA) foram consideradas como apenas uma única população.....	135
Figura 10. Dendrograma dos 16 haplótipos de <i>Sabethes aurescens</i> utilizando o método de Neighbor-Joining (modelo de distância genética de Tamura-Nei), com inclusão de <i>Sabethes cyaneus</i> (GenBank # GU908121) como grupo externo. Os valores de <i>bootstrap</i> encontram-se nos ramos.....	136
Figura 11. Abundância média de larvas de <i>Sabethes aurescens</i> obtidas em internódios de bambus com diferentes tratamentos. SA: <i>Sabethes aurescens</i> ; WL: <i>Wyeomyia limai</i> ; TO: <i>Toxorhynchites</i> spp. Os pontos indicam a média e as barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.....	138
Figura 12. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: controle.....	139
Figura 13. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: uma larva de <i>Sabethes aurescens</i>	139
Figura 14. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus	

com o tratamento: cinco larvas de <i>Sabethes aurescens</i>	140
Figura 15. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: uma larva de <i>Wyeomyia limai</i>	141
Figura 16. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: uma larva de <i>Toxorhynchites</i> spp.....	141
Figura 17. Representação das estruturas químicas dos compostos obtidos junto aos diferentes tratamentos realizados em internódios de bambus da Mata Atlântica. A: éter metil <i>tert</i> -amílico (2-metóxi-2-metilbutano). B: álcool isoamílico (3-metil-1-butanol). C: dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil) metano). D: metil etil cetona (2-butanona). E: 1,3,6-octatrieno ((3- <i>E</i> ,6- <i>E</i>)-1,3,6-octatrieno).....	142

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela I. Lista de espécies de Culicidae capturadas, por subfamília e tribo, nas coletas realizadas entre março de 2009 e janeiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	52
Tabela II. Lista de espécies de Culicidae registradas para as quatro estações climáticas em coletas realizadas entre março de 2009 a janeiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	54
Tabela III. Medidas ecológicas dos Culicidae registradas para as quatro estações climáticas em coletas realizadas entre março de 2009 a janeiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	55
Tabela IV. Lista de espécies de Culicidae registradas nos diferentes intervalos horários de coletas realizadas no período diurno entre março de 2009 e janeiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	60
Tabela V. Lista de espécies capturadas em diferentes alturas na mata (Dossel e Sub-bosque), e com diferentes atrativos (Ave e Mamífero) entre março de 2009 a janeiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	65
Tabela VI. Medidas ecológicas dos Culicidae registradas para armadilhas no dossel da mata iscadas com aves e mamíferos e para armadilhas no sub-bosque da mata iscadas com aves e mamíferos em coletas realizadas entre março de 2009 a janeiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.....	66

CAPÍTULO II

Tabela I. Distribuição haplotípica da frequência absoluta das cinco populações de <i>Sabethes aurescens</i> capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.....	129
Tabela II. Sítios variáveis observados nos 16 haplótipos do gene COI de <i>Sabethes aurescens</i> capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.....	129
Tabela III. Diversidade genética calculada para as cinco populações de <i>Sabethes aurescens</i> capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.....	132
Tabela IV. Resultados dos testes de neutralidade das populações de <i>Sabethes aurescens</i> capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Todos os valores foram não significativos ($p > 0,05$).....	132
Tabela V. Análise de variância molecular (AMOVA) das populações de <i>Sabethes aurescens</i> capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.....	133
Tabela VI. Análise de variância molecular (AMOVA) das populações de <i>Sabethes aurescens</i> , capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. As populações da Unidade de Conservação Ambiental Desterro, do Morro da Lagoa, e do Bairro Pantanal foram consideradas como uma única população.....	133
Tabela VII. Valores da distância genética <i>Fst</i> par-a-par (acima da diagonal) e número efetivo de migrantes (<i>Nm</i>) (abaixo da diagonal) em cinco populações de <i>Sabethes aurescens</i> de diferentes fragmentos de	

Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. LP: Parque Lagoa do Peri, ML: Morro da Lagoa da Conceição, PA: Bairro Pantanal, UC: Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e SA: Santo Amaro da Imperatriz. Valores marcados com (*) apresentam significância ($p < 0,05$)..... 134

RESUMO

Os Culicidae do bioma Mata Atlântica têm grande relevância epidemiológica, e o estudo de fatores ambientais e climáticos que influenciam sua abundância e diversidade são importantes. Os objetivos deste estudo foram relacionar parâmetros de abundância e diversidade da fauna de Culicidae com fatores temporais, espaciais e de atratividade no bioma Mata Atlântica; analisar o perfil genético, baseado em fragmento da subunidade I do gene mitocondrial citocromo c oxidase, de populações de *Sabethes aurescens* de áreas de mata da região metropolitana de Florianópolis-SC; e identificar fatores que influenciam na oviposição desta espécie nos internódios de bambus. Foram registradas 27 espécies de Culicidae na Unidade de Conservação Ambiental Desterro (bioma Mata Atlântica), sendo que os Sabethini foram predominantes. A primavera foi o período em que foram registradas maior abundância, riqueza, e diversidade de mosquitos. Nesta estação, *Anopheles cruzii*, *Sa. purpureus*, *Runchomyia humboldti* e *Wyeomyia pilicauda* apresentaram os seus picos de atividade. No período diurno estudado, os Culicidae apresentaram atividade constante. *Runchomyia humboldti* foi mais ativa no início do período matutino e *Ru. reversa* no final do período matutino. Os culicídeos tiveram maior atividade no sub-bosque da floresta. *Anopheles cruzii*, *Ru. humboldti*, e *Ru. reversa* também demonstraram esse padrão de estratificação vertical de atividade (preferência pelo sub-bosque da mata). *Sabethes purpureus* foi mais atraído por armadilhas com aves e *Ru. reversa* com mamíferos roedores. Para *Sa. aurescens*, foram observados 16 haplótipos nas populações estudadas. Áreas

de mata legalmente protegidas e, conseqüentemente, mais preservadas, como o Parque Municipal da Lagoa do Peri (LP) e a Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC), apresentaram populações de *Sa. aurescens* com maiores diversidades genéticas. Estas populações não se encontram em expansão, e o fluxo gênico entre elas não está correlacionado com a distância geográfica. As fêmeas de *Sa. aurescens* preferem ovipositar em internódios de bambus que apresentem baixas densidades de larvas coespecíficas, e evitam ovipositar em locais que apresentem larvas predadoras de *Toxorhynchites* spp. Para esta espécie, o composto químico dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil) metano) apresentou potencial como atrativo, e o 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno) como repelente para as oviposições.

Palavras-chave: DNA mitocondrial, fitotelmata, Sabethini, *Sabethes aurescens*, oviposição.

ABSTRACT

The Culicidae of the Atlantic Forest biome have great epidemiological relevance, and the study of environmental and climatic factors that influence their abundance and diversity are important. The objectives of this study were to relate parameters of abundance and diversity of the fauna of Culicidae to temporal, spatial, and attractiveness factors in the Atlantic Forest; analyze the genetic profile, based on fragment of subunit I of the mitochondrial gene cytochrome c oxidase of *Sabethes aurescens* populations of forest fragments in the metropolitan region of Florianópolis-SC; and to identify factors that influence the oviposition of this species in bamboo internodes. Twenty-seven species of Culicidae were recorded in the Unidade de Conservação Ambiental Desterro (Atlantic forest biome), and Sabethini were predominant. Spring was the period in which abundance, richness, and diversity of mosquitoes were higher. *Anopheles cruzii*, *Sa. purpureus*, *Runchomyia humboldti*, and *Wyeomyia pilicauda* had their peak of activity in this season. In the studied diurnal period, Culicidae as a group showed a non-significantly differentiated activity. *Runchomyia humboldti* proved to be more active in early mornings and *Ru. reversa* showed greater activity at the end of the morning. Culicidae was more active in the understory of the forest. *Anopheles cruzii*, *Ru. humboldti*, and *Ru. reversa* also showed this pattern of vertical stratification of activity (preferably the understory of the forest). *Sabethes purpureus* was more attracted to traps with bird, and *Ru. reversa* was more attracted to rodent-baited traps. Sixteen haplotypes were observed in the studied populations of *Sa. aurescens*. Legally

protected and, consequently, more preserved forest areas, like the Parque Municipal da Lagoa do Peri (LP) and Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC) had *Sa. aurescens* populations with higher genetic diversity. These populations are not expanding, and the gene flow between them is not correlated with geographic distance. *Sabethes aurescens* females prefer to lay eggs in bamboo internodes with low density of conspecific larvae, and avoid laying in places that have predatory larvae of *Toxorhynchites* spp. For this species, the dimethyl disulfide ((dissulfanil methyl) methane) showed a potential activity as an attractive, and 1,3,6-octatriene ((3-E, 6-E)- 1,3,6- octatriene) as a repellent for oviposition.

Key words: Mitochondrial DNA, phytotelma, Sabethini, *Sabethes aurescens*, oviposition.

INTRODUÇÃO GERAL

Os Culicidae estão divididos em duas subfamílias, Anophelinae e Culicinae. Esta apresenta 11 tribos, Aedeomyiini, Aedini, Culicini, Culisetini, Ficalbiini, Hodgesiini, Mansoniini, Orthopodomyiini, Sabethini, Uranotaeniini, e Toxorhynchitini. Os culicídeos estão divididos em 95 gêneros que reúnem aproximadamente 3.550 espécies, sendo que, aproximadamente, mil delas ocorrem na região Neotropical (Forattini, 2002; Harbach, 2009).

Os Sabethini se dividem em 14 gêneros e incluem, aproximadamente, 420 espécies. Nove gêneros estão exclusivamente distribuídos na região Neotropical, sendo eles: *Isostomyia*, *Johnbelkinia*, *Limatus*, *Onirion*, *Sabethes*, *Shannoniana*, *Runchomyia*, *Trichoprosopon*, e *Wyeomyia*. Entre esses gêneros, *Wyeomyia* se destaca por apresentar o maior número de espécies descritas (Harbach, 2009).

Os sabetineos são monofiléticos (Judd, 1996), caracterizados por apresentar os seguintes caracteres externos: adultos com clipeo pouco desenvolvido, palpos curtos nas fêmeas e em grande parte dos machos, e antenas, nas fêmeas, mais curtas que a probóscida com cerdosidade normal. Nos machos, as antenas são variáveis, podendo ser semelhante às das fêmeas ou tão longos quanto à probóscide e com cerdosidade densa. No tórax, apresentam lobos antepronotais grandes, com exceção dos *Trichoprosopon*. Nas pleuras, é observado o meron pequeno e com a margem superior sempre em linha com a base da coxa posterior. As cerdas pré-espiraculares estão presentes, com exceção dos *Limatus*, e as cerdas pós-espiraculares são sempre ausentes. As cerdas mesepimerais superiores estão sempre presentes

e as inferiores sempre ausentes. Nas pernas é observado que o primeiro tarsômero posterior é sempre mais longo que a tíbia correspondente, e que o quarto tarsômero de todos os tarsos é sempre mais longo do que o quinto. As asas possuem nervuras com escamas estreitas. O abdome das fêmeas possui a extremidade distal com aspecto truncado (Forattini, 1965).

As formas imaturas desse grupo utilizam, na maioria das espécies, apenas criadouros formados a partir do acúmulo de água em partes de plantas vivas ou mortas. Estes criadouros são denominados de fitotelmata (Varga, 1928) e podem ser classificados em cinco tipos: (1) cascas de frutas e partes caídas de plantas (e.g., brácteas de palmeiras); (2) axilas foliares (e.g., bromélias), (3) flores (e.g., flores ou inflorescências de Heliconiaceae), (4) folhas modificadas (e.g., plantas carnívoras), e (5) ocos de árvores e/ou internódios de bambus (Greeney, 2001). Além desses criadouros, algumas espécies, como *Limatus durhamii* Theobald, 1901, podem se desenvolver também em criadouros artificiais, como aqueles formados pelo lixo doméstico, com potencial de acumular água, se abandonado, principalmente, em áreas próximas ao ambiente silvestre (Lopes, 1997).

Várias espécies de Sabethini apresentam, na forma larvária, mandíbulas e maxilas modificadas para a predação, sendo que em alguns casos, algumas espécies predam larvas coespecíficas de tamanho corpóreo menor, especialmente em criadouros com altas densidades de larvas (Harbach, 1991; Mogi, 2007). Além disso, larvas de algumas espécies desse grupo podem apresentar um comportamento único, que é de deitar sobre o lado dorsal do corpo no fundo dos criadouros (e.g. *Sabethes*) (Forattini, 1965; 2002).

Os adultos desse grupo de mosquitos têm hábito silvestre, ou seja, habitam áreas de florestas que podem ser bem preservadas ou não (Dorvillé, 1996). As fêmeas se alimentam de sangue de uma grande variedade de animais, por exemplo, espécies como *Sa. albiprivus* (Theobald, 1903) podem utilizar hospedeiros humanos e/ou macacos (Marassá *et al.*, 2009), e *Wy. mitchellii* (Theobald, 1905) pode se alimentar a partir de pequenos mamíferos como coelhos (Edman & Haeger, 1977). Entre os Sabethini, um grande número de espécies apresenta atividade hematofágica predominantemente diurna (e.g. *Wy. davisii* Lane & Cerqueira, 1942), sendo que ao voar, é possível observar nesses mosquitos as pernas posteriores encurvadas sobre o seu dorso (Lourenço-De-Oliveira & Silva, 1985; Harbach, 2009).

Os Sabethini desempenham importante papel no ciclo de transmissão de diversos agentes infecciosos (Yuill, 1986). Espécies de *Limatus* foram encontradas infectadas com o vírus Wyeomyia e com o vírus da Encefalite Equina Venezuelana, espécies de *Trichoprosopon* tiveram exemplares registrados portando o vírus Pixuna e o vírus Ilhéus. Também, espécies de *Wyeomyia* foram encontradas infectadas com o vírus Tr 9223 e o vírus Wyeomyia, e a partir de exemplares de *Sabethes* foi isolado o vírus da febre amarela (Galindo & Trapido, 1955; Forattini, 1965; Hoch *et al.*, 1981; Zavortink *et al.*, 1983; Turell *et al.*, 2005).

A Mata Atlântica é considerada a segunda maior floresta pluvial tropical do continente americano, sendo que sua cobertura territorial original estendia-se por toda a costa brasileira chegando até o nordeste da Argentina e leste do Paraguai. Esse bioma é considerado um dos 25 *hotspots* mundiais de

biodiversidade, abrigando mais de oito mil espécies endêmicas de plantas e animais (Myers *et al.*, 2000).

Esse bioma apresenta diferentes formações florestais, como a restinga, o manguezal, a floresta ombrófila mista, e a floresta ombrófila densa. Atualmente restam apenas 7% da área original da Mata Atlântica concentrados em arquipélagos de fragmentos florestais bastante separados entre si, sendo que este bioma, provavelmente, é uma das áreas sul-americanas com o maior número de reservas de proteção integral (estações ecológicas, parques, e reservas) (Tabarelli *et al.*, 2005).

Dessa forma, as florestas remanescentes desse bioma podem ser consideradas um importante ou único habitat para diversas espécies de Culicidae, especialmente para os Sabethini, devido à sua multiplicidade de criadouros do tipo fitotelmata e pela disponibilidade de uma rica fauna de hospedeiros vertebrados (Guimarães *et al.*, 2000; Paterno & Marcondes, 2004). Laporta & Sallum (2011) capturaram 33 espécies de culicídeos adultos na Mata Atlântica, sendo 19 pertencentes aos Sabethini. Alencar *et al.* (2011), também nesse bioma, coletaram 61 espécies de mosquitos adultos, sendo que 35 delas foram classificadas como sabetineos. Alencar *et al.* (2010) em um levantamento de imaturos de Culicidae em diferentes tipos de criadouros em área de Mata Atlântica, também observaram uma predominância dos Sabethini.

Algumas espécies desse grupo, por apresentarem uma baixa valência ecológica, ou seja, por serem pouco resistentes às variações ambientais, podem ser utilizadas como bioindicadoras da qualidade ambiental na Mata Atlântica (Dorvillé, 1996). Marchi *et al.* (2010), por exemplo, observaram que

Ru. reversa (Lane & Cerqueira 1942) esteve presente apenas em coletas realizadas em áreas silvestres mais preservadas no litoral de Santa Catarina.

Assim, neste estudo pretende-se contribuir para o conhecimento sobre a diversidade, ecologia, e comportamento de espécies de Sabethini que habitam o bioma Mata Atlântica da região sul do Brasil. Ele está dividido em dois capítulos. O primeiro trata de aspectos relacionados à influência de fatores temporais, espaciais e de atratividade sobre algumas espécies de Sabethini. Já o segundo capítulo aborda aspectos associados às relações genéticas e ao comportamento de oviposição de uma espécie de Sabethini, *Sabethes aurescens* Lutz, 1905.

REFERÊNCIAS

- Alencar, J.; Serra-Freire, N. M.; Oliveira, R. F. N.; Silva, J. S.; Pacheco, J. B. & Guimarães, A. E. 2010. Immature mosquitoes of Serra do Mar Park, São Paulo state, Brazil. **Journal of the American Mosquito Control Association** **26**: 249-256.
- Alencar, J.; Ferreira, Z. M.; Lopes, C. M.; Serra-Freire, N. M.; Mello, R. P.; Silva, J. S. & Guimarães, A. E. 2011. Biodiversity and Times of Activity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Biome of the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Medical Entomology** **48**: 223-231.
- Dorvillé, L. F. M. 1996. Mosquitoes as Bioindicators of Forest Degradation In Southeaestern Brazil, a Statistical Evaluation of Published Data in the Literature. **Studies on Neotropical Fauna and Environmental** **31**: 68-78.
- Edman, J. D. & Haeger, J. S. 1977. Host-Feeding Patterns of Florida Mosquitoes. **Journal of Medical Entomology** **14**: 477-479.
- Forattini, O. P. 1965. **Entomologia Médica**, vol. 3, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 416p.
- Forattini, O. P. 2002. **Culicidologia Médica**, vol. 2, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 860p.
- Galindo, P. & Trapido, H. 1955. Forest canopy mosquitoes associated with the appearance of sylvan yellow fever in Costa Rica, 1951. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **4**: 543-549.
- Greeney, H. F. 2001. The insects of plant-held waters: a review and bibliography. **Journal of Tropical Ecology** **17**: 241-260.

- Guimarães, A. E.; Mello, R. P.; Lopes, C. M. & Gentile, C. 2000. Ecology of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. I – Montly Frequency and Climatic Factors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **95**: 1-16.
- Harbach, R. E. 1991. A New Subgenus of the Genus *Sabethes* (Diptera: Culicidae). **Mosquito Systematics** **23**: 1-9.
- Harbach, R. E. 2009. **Mosquito Taxonomic Inventory**. Website: <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/users/ralph-harbach>. Acesso em: dezembro/2011.
- Hoch, A. L.; Peterson, N. E.; Leduc, J. W. & Pinheiro, F. P. 1981. An outbreak of Mayaro virus disease in Belterra, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **30**: 689-698.
- Judd, D. D. 1996. Review of the systematics and phylogenetic relationships of the Sabethini (Diptera: Culicidae). **Systematic Entomology** **21**: 129-150.
- Laporta, G. Z. & Sallum, M. A. M. 2011. Effect of CO₂ and 1-octen-3-ol attractants for estimating species richness and the abundance of diurnal mosquitoes in the southeastern Atlantic forest, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **106**: 279-284.
- Lopes, J. 1997. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em criadouros naturais e artificiais de área rural do Norte do Estado do Paraná, Brasil. V. Coleta de larvas em recipientes artificiais instalados em mata ciliar. **Revista de Saúde Pública** **31**: 370-377.
- Lourenço-De-Oliveira, R. & Silva, T. F. 1985. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria),

- em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. III. Preferência horária das fêmeas para o hematofagismo. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **80**: 195-201.
- Marassá, A. M.; Paula, M. B.; Gomes, A. C. & Consales, C. A. 2009. Biotin-Avidin Sandwich ELISA With Specific Human Isotypes IgG1 and IgG4 For Culicidae Mosquito Blood Meal Identification From An Epizootic Yellow Fever Area in Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases** **15**: 696- 706.
- Marchi, M. J.; Müller, G. A. & Marcondes, C. B. 2010. Mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma Futura Unidade de Conservação em Área de Mata Atlântica no Sul do Brasil. **EntomoBrasilis** **3**: 34-37.
- Mogi, M. 2007. Insects and other invertebrate predators. **The American Mosquito Control Association** **23**: 93-109.
- Myers, N.; Mittermeier, R. A.; Mittermeier, C. G.; Fonseca, G. A. B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature** **403**: 853-858.
- Paterno, U. & Marcondes, C. B. 2004. Mosquitos antropofílicos de atividade matutina em Mata Atlântica, Florianópolis, SC. **Revista de Saúde Pública** **38**: 133-135.
- Tabarelli, M.; Pinto, L. P.; Silva, J. M. C.; Hirota, M. M.; Bedê, L. C. 2005. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade** **1**: 132-138.
- Turell, M. J.; O'Guinn, M. L.; Jones, J. W.; Sardelis, M. R.; Dohm, D. J.; Watts, D. M.; Fernandez, R.; Rosa, A. T.; Guzman, H.; Tesh, R.; Rossi, C. A.; Ludwig, G. V.; Mangiafico, J. A.; Kondig, J.; Wasieleski Jr, L. P.; Pecor, J.; Zyzak, M.; Schoeler, G.; Mores, C. N.; Calampa, C.; Lee, J. S. & Klein, T. A. 2005. Isolation of Viruses from Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Collected in

- the Amazon Basin Region of Peru. **Journal of Medical Entomology** **42**: 891-898.
- Yuill, T. M. 1986. The ecology of tropical arthropod-borne viruses. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics** **17**: 189-219.
- Varga, L. 1928. Ein interessanter biotop ther biocönose von wasserorganismen **Biologisches Zentralblatt** **48**: 143-162.
- Zavortink, T. J.; Roberts, D. R. & Hoch, A. L. 1983. *Trichoprosopon digitatum* – Morphology, Biology, and Potential Medical Importance. **Mosquito Systematics** **15**: 141-146.

CAPÍTULO I

**Relação entre fatores temporais, espaciais e de atratividade e a fauna de
Culicidae (Diptera) do bioma Mata Atlântica**

RESUMO

Conhecer como as populações de Culicidae do bioma Mata Atlântica são influenciadas pelas variações temporais, espaciais e de disponibilidade de hospedeiros mostra-se importante para a melhor compreensão da atividade hematofágica deste grupo. A influência de fatores temporais, espaciais, e de atratividade sobre a fauna de Culicidae em área de Mata Atlântica na região Sul do Brasil foi estudada. As coletas foram mensais e ocorreram entre março de 2009 e fevereiro de 2010 com o auxílio de armadilhas do tipo CDC iscadas com aves e mamíferos roedores. Foram capturados exemplares de 27 espécies de Culicidae, e os Sabethini foram predominantes. As cinco espécies mais abundantes foram: *Sabethes purpureus*, *Anopheles cruzii*, *Ruchomyia humboldti*, *Ru. reversa*, e *Wyeomyia pilicauda*. A primavera foi o período em que foram registradas a maior abundância, riqueza, e diversidade de mosquitos. Nesta estação, *Anopheles cruzii*, *Sa. purpureus*, *Runchomyia humboldti*, e *Wyeomyia pilicauda* apresentaram os seus picos de atividade. No período diurno estudado, os Culicidae apresentaram atividade constante. *Ruchomyia humboldti* foi mais ativa no início do período matutino e *Ru. reversa* maior atividade no final do período matutino. Os culicídeos tiveram maior atividade no sub-bosque da floresta. *Anopheles cruzii*, *Ru. humboldti*, e *Ru. reversa* também demonstraram esse padrão de estratificação vertical de atividade (preferência pelo sub-bosque da mata). *Sabethes purpureus* foi mais atraído por armadilhas com aves e *Ru. reversa* com mamíferos roedores.

Palavras-chave: *Anopheles*, Mata Atlântica, *Runchomyia*, *Sabethes*, *Wyeomyia*.

ABSTRACT

Knowing how the populations of Culicidae Atlantic forest are influenced by changes in time, space, and availability of hosts appears to be important for better understanding of the biting activity of this group. The influence of temporal, spatial, and attractiveness on the fauna of Culicidae in the Atlantic Forest in southern Brazil was studied. Samples were collected monthly and occurred between March 2009 and February 2010 with the use of CDC traps baited with birds and mammals rodents. Twenty-seven species of Culicidae were obtained, and Sabethini were predominant. The five most abundant species were: *Sabethes purpureus*, *Anopheles cruzii*, *Runchomyia humboldti*, *Ru. reversa*, and *Wyeomyia pilicauda*. Spring was the period in which they were recorded at higher abundance, richness, and diversity of mosquitoes. *Anopheles cruzii*, *Sa. purpureus*, *Runchomyia humboldti*, and *Wyeomyia pilicauda* were more active in this season. In the daytime period studied, the Culicidae showed a constant activity. *Runchomyia humboldti* showed to be more active in early mornings and *Ru. reversa* at the end of the morning. The Culicidae had greater activity in the understory of the forest. *Anopheles cruzii*, *Ru. humboldti*, and *Ru. reversa* also showed this pattern of vertical stratification of activity (preferably the understory of the forest). *Sabethes purpureus* was more attracted to bird-baited traps, while *Ru. reversa* was more attracted to rodent-baited traps with .

Key words: *Anopheles*, Atlantic forest, *Runchomyia*, *Sabethes*, *Wyeomyia*.

INTRODUÇÃO

Os Culicidae, como insetos holometábolos, apresentam quatro estágios biológicos de desenvolvimento: ovo, larva (com quatro instares), pupa e adulto. Os três primeiros ocorrem no ambiente aquático e o último no ambiente terrestre. Assim, do ponto de vista ecológico, por ocuparem ecótopos diferentes, cada espécie desse grupo pode ser caracterizada por apresentar duas populações distintas, a de imaturos e a de adultos (Forattini, 2002).

A fase imatura é marcada pelo crescimento corpóreo, enquanto que, durante a fase adulta, esses insetos se dispersam pelo ambiente em busca de parceiros para a reprodução, de recursos alimentares, e de locais para oviposição. Para que consigam desempenhar essas atividades de forma adequada durante a fase adulta, os culicídeos necessitam estar em um ambiente favorável para que, assim, consigam detectar sinais olfatórios, visuais e de temperatura provenientes dos possíveis hospedeiros ou dos sítios adequados para depositarem seus ovos (Forattini, 1965).

As atividades de cópula, hematofagia e oviposição são desempenhadas, geralmente, durante o mesmo período ao longo do dia. Assim, de acordo com o horário do dia que tais atividades são exercidas, os culicídeos podem ser classificados como: diurnos, crepusculares ou noturnos (Sant'Ana & Lozovei, 2001; Gomes *et al.*, 2007; Bona & Navarro-Silva, 2008). Essa preferência por determinados períodos para sua atividade está associada a dois fatores, um de ordem endógena, como, por exemplo, o estágio de desenvolvimento do ciclo gonotrófico das fêmeas, e outro de ordem exógena, como fatores ligados ao ambiente (*e.g.* temperatura) (Anderson *et al.*, 2007). Espécies como *Culex*

declarator Dyar & Knab, 1906, apresentam atividade exclusivamente noturna, espécies como *Psorophora champerico* (Dyar & Knab, 1906) têm atividade crepuscular, e espécies como *Sabethes chloropterus* (Humboldt, 1819) apresentam atividade diurna (Lourenço-de-Oliveira & Silva, 1985; Chadee, 1990; Müller *et al.*, no prelo).

Espécies de culicídeos de atividade noturna e crepuscular, de modo geral, apresentam coloração corpórea opaca, variando entre marrom claro e preto. Estas espécies se utilizam, principalmente, de sinais olfativos captados por sensilas dispostas nas antenas para localizar os seus hospedeiros (Forattini, 1965; Stav *et al.*, 1999). Já espécies diurnas são, em sua maioria, coloridas e, em alguns casos, apresentam escamas que recobrem seu corpo com tonalidades metalizadas. Essas espécies, além de sinais olfatórios, se utilizam de sinais visuais como fator para a detecção de hospedeiros ou sítios de oviposição (Collins & Blackwell, 2000; Zsemlye *et al.*, 2005).

Nas espécies de Culicidae classificadas como diurnas, as variações da intensidade luminosa representam o principal fator influenciador da atividade biológica. A luminosidade pode se correlacionar diretamente com a temperatura e a umidade relativa do ar, sendo que associadas, essas variáveis ambientais exógenas influenciam o ritmo de ação dos culicídeos adultos (Jordan & Hubbard, 1991; Forattini, 2002). Variações climáticas, mesmo que em pequena escala de intensidade e de tempo, podem ser captadas pelos mosquitos, que modificam, assim, imediatamente o seu comportamento (Lopes *et al.*, 1995).

Fêmeas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), por exemplo, têm sua atividade hematofágica quadruplicada no intervalo do dia entre às 15:00 e 16:00

horas (Nelson *et al.*, 1978). Já *Sa. identicus* Dyar & Knab, 1907, espécie de hábito silvestre, se mostra mais ativa entre às 8:00 e 10:00 horas, início do período matutino (Alencar *et al.*, 2011). Além disso, determinados agentes infecciosos, como a *Wuchereria bancrofti* (Cobbold, 1877), quando presentes no mosquito hospedeiro, sincronizam sua atividade com a atividade do inseto, o que aumenta suas chances de transmissão para o hospedeiro vertebrado no momento da hematofagia. Isso foi observado por Shriram *et al.* (2005) em exemplares de *Ae. niveus* Ludlow, 1952, que apresentam picos de atividade entre às 4:00 e 6:00 horas e entre às 17:00 e 18:00 horas. Dessa forma, determinar os intervalos horários em que os culicídeos apresentam uma maior atividade mostra-se importante, do ponto de vista epidemiológico, pois é possível orientar a população humana entre em contato com esses insetos nos horários considerados críticos para o exercício de sua hematofagia.

Além da variação climática diária que influencia na atividade dos Culicidae, existe a variação climática em uma escala temporal mais ampla, como aquela relacionada à sazonalidade (Serpa *et al.*, 2006). Fatores climáticos associados à sazonalidade, especialmente nas regiões Sul e Sudeste do Brasil onde é possível registrar quatro estações bem distintas, exercem forte influência sobre as populações de Culicidae. Períodos mais quentes, como aqueles registrados no verão e na primavera, possibilitam uma elevada proliferação da maioria das espécies desses insetos, já em períodos com temperaturas mais baixas, como os que ocorrem no inverno e outono, as populações dos mosquitos, especialmente em suas formas adultas, têm suas abundâncias reduzidas a níveis muito baixos (Guimarães *et al.*, 2000a; Santos-Neto & Lozovei, 2008; Gomes *et al.*, 2010). Forattini *et al.* (1996), em área de

Mata Atlântica localizada na região sudeste do Brasil, observaram que as populações de mosquitos *Anopheles (Kerteszia)* foram diretamente influenciadas pela sazonalidade, sendo que durante o inverno as quantidades de exemplares desse grupo foram nove vezes menores do que aquelas registradas durante o verão.

Fatores sazonais também podem influenciar a taxa de transmissão de arboviroses a humanos. No Estado de Goiás, o aumento das chuvas nos meses de janeiro, fevereiro e março possibilitou um incremento no número de criadouros para o *Ae. aegypti*, dessa forma, foi registrado um aumento populacional desta espécie seguido de um aumento do número de casos de dengue nesta região (Souza *et al.*, 2010). Além disso, a elevação do tamanho populacional dos Culicidae associada às mudanças sazonais pode prejudicar a qualidade de vida das populações humanas e de outros animais devido ao elevado número de picadas ou ainda, trazer danos econômicos para a produção de leite e de carne nas áreas rurais (Alkan & Aldemir, 2010).

Durante a atividade hematofágica, as fêmeas dos culicídeos podem ser classificadas, quanto ao tipo de comportamento em relação à aproximação do hospedeiro, como tímidas ou agressivas. No primeiro caso, incluem-se mosquitos que abordam os hospedeiros em situação pouco ativa, como algumas espécies de *Haemagogus*, que, durante as horas mais quentes do dia, se alimentam de sangue de macacos quando estes estão dormitando na copa das árvores (Downs, 1985; Pinto *et al.*, 2009). Já aquelas espécies consideradas agressivas, se alimentam de hospedeiros em estado de vigília e, portanto, apresentam comportamento adequado para ultrapassar as defesas

destes. Um exemplo deste último caso são espécies do gênero *Psorophora* (Gahan *et al.*, 1969; Walker & Edman, 1985).

Para localizar um possível hospedeiro para a realização do repasto sanguíneo, as fêmeas de Culicidae começam a perceber diversos estímulos atrativos à medida que se aproximam da fonte alimentar. Inicialmente, a mais de 20m de um possível hospedeiro, as fêmeas voam de forma aleatória no ambiente e, ao detectar o primeiro estímulo, como a presença do ácido láctico emitido pela fonte alimentar, iniciam um voo direcionado. Em distâncias entre 20 e 2m da fonte alimentar, uma pluma de dióxido de carbono passa também a ser detectada. Em distâncias menores que 2m, além dos estímulos anteriormente citados, os mosquitos conseguem captar o calor e a umidade emitidos pelo corpo do hospedeiro (Knols & Meijerink, 1997).

Para detectar os sinais químicos emitidos pelos hospedeiros, os Culicidae apresentam sensilas recobrendo órgãos como antenas, olhos, pernas, e peças bucais. As sensilas são órgãos sensoriais que possuem a capacidade de receber energia a partir de um estímulo e transformá-la em uma informação por meio de um impulso nervoso. Algumas são especializadas em detectar estímulos mecânicos, químicos, e térmicos, bem como mudanças na luminosidade e na umidade relativa do ar (Zwiebel & Takken, 2004).

Em relação à preferência por hospedeiros, os culicídeos demonstram ser um grupo oportunista, alimentando-se de vertebrados disponíveis em seu habitat. Algumas espécies, como *Ae. serratus* Theobald, 1901 e *An. cruzii* Dyar & Knab, 1908, são consideradas generalistas, pois se alimentam de aves e diversos grupos de mamíferos, inclusive em humanos (Forattini *et al.*, 1987; Gomes *et al.*, 1987). Outras espécies, como *Mansonia titillans* (Walker, 1848),

apresentam caráter essencialmente ornitófilo (Alencar *et al.*, 2005). Em estudos realizados sob condições controladas de laboratório, *An. gambiae* Giles, 1926 mostrou ser mais atraída por odores de origem humana que por aqueles de origem bovina (Pates *et al.*, 2001).

Espécies de culicídeos generalistas, do ponto de vista epidemiológico, são importantes, pois podem desempenhar um relevante papel na transmissão de agentes patogênicos entre diferentes tipos de hospedeiros. Algumas espécies do gênero *Culex*, que apresentam um comportamento alimentar eclético, são vetoras do vírus da Encefalite do Oeste do Nilo e, dessa forma, desempenham importante papel no ciclo de transmissão do mesmo em aves no ambiente silvestre e em mamíferos como cavalos e humanos no meio urbano (Vitec *et al.*, 2008; Pfeffer & Dobler, 2010).

Para a identificação dos hábitos alimentares dos culicídeos, em relação a sua preferência por determinados hospedeiros, usualmente, são utilizadas quatro métodos distintos. O primeiro consiste na utilização da técnica de reação em cadeia de polimerase (PCR) através da utilização de marcadores moleculares específicos para a identificação da espécie do hospedeiro a partir do sangue presente no abdômen do mosquito alimentado (Molaei *et al.*, 2007). O segundo método consiste na utilização da técnica com precipitina para a detecção do tipo de hospedeiro, também a partir do sangue obtido no conteúdo estomacal do inseto alimentado (Alencar *et al.*, 2005). O terceiro método, está baseado na técnica imunoenzimática de ELISA onde, também a partir do conteúdo estomacal do culicídeos, é possível identificar com muita segurança o hospedeiro vertebrado (Marassá *et al.*, 2009). E o quarto método utilizado para a detecção da preferência dos mosquitos por hospedeiros é fundamentado na

obtenção desses insetos a partir de armadilhas (e.g. armadilha CDC) contendo diferentes tipos de iscas animais, que capturam o culicídeo quando da aproximação para a realização do repasto sanguíneo (Jansen *et al.*, 2009).

Em florestas tropicais, como a Mata Atlântica, é possível observar uma distinta distribuição de organismos ao longo do plano vertical da mata, conhecida como estratificação vertical. Nessas regiões, estima-se que a fauna de artrópodes no dossel das árvores seja duas vezes mais diversa do que a encontrada na região do solo (Erwin, 1982).

A estratificação vertical de organismos ocorre devido aos diferentes fatores físicos e ambientais encontrados na interface entre o dossel e sub-bosque da floresta. No dossel é possível observar maior disponibilidade de luz, elevada variação da umidade relativa do ar e da temperatura, e maior incidência de ventos (Martins & Souza, 2005). Essa diferença nas condições microclimáticas dos diferentes estratos da floresta permite que sejam encontradas distintas comunidades de animais, inclusive de Culicidae (Lourenço-de-Oliveira & Luz, 1996; Martins & Souza, 2005).

Entre os culicídeos, espécies como *An. cruzii* (Ueno *et al.*, 2007), *Hg. capricornii* Lutz, 1904 (Guimarães *et al.*, 1985) e *Hg. janthinomys* Dyar, 1921 (Ramírez *et al.*, 2007) apresentam atividade acrodendrófila, já espécies como *Ae. fluviatilis* (Lutz, 1904) (Guimarães *et al.*, 1985) e *Hg. leucocelaenus* (Pinto *et al.*, 2009) apresentam maior atividade na faixa próxima ao solo. Galindo & Trapido (1955) observaram que algumas espécies de *Haemagogus* que, na floresta preservada, habitavam o dossel, após a ocorrência de desmatamentos passaram a habitar estratos próximos ao solo. Essa mudança de

comportamento das espécies provocou o aumento do registro de casos de febre amarela silvestre em humanos que viviam próximo àquela área.

Assim, conhecer como as populações de Culicidae do bioma Mata Atlântica são influenciadas pelas variações temporais e espaciais, bem como pela disponibilidade de diferentes tipos de hospedeiros, mostra-se importante, para melhor compreensão dos fatores associados à atividade hematofágica desse grupo, o que posteriormente poderá fornecer dados em eventual reemergência de agravos a saúde veiculado por estes dípteros.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Relacionar parâmetros de abundância e diversidade da fauna de Culicidae com fatores temporais, espaciais e de atratividade no bioma Mata Atlântica.

Objetivos específicos

- Conhecer a fauna de Culicidae em floresta ombrófila densa em estágio secundário de regeneração.
- Avaliar o efeito de fatores temporais como estações climáticas e intervalos horários do período diurno sobre a abundância e diversidade dos Culicidae.
- Determinar se fatores espaciais, como o estrato vertical, influencia na atividade da fauna de Culicidae.
- Determinar se existe atratividade e preferência por aves e/ou mamíferos para a realização de repasto sanguíneo durante o período diurno pela fauna de Culicidae.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

Os culicídeos obtidos no presente estudo foram capturados na Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UCAD), localizada na região centro-norte da Ilha de Santa Catarina – Florianópolis, Santa Catarina, Brasil (Figura 1). A sede tem as coordenadas 27°31'50,8"S e 48°30'44,3"W. A UCAD possui 491,5ha de área, e sua vegetação é do tipo floresta ombrófila densa em quatro estádios de regeneração: capoeirinha (vegetação com até seis anos de regeneração), capoeira (com vegetação em processo de regeneração de até 20 anos), capoeirão (vegetação em processo de regeneração por um período de aproximadamente 30 anos) e floresta secundária (área apenas explorada seletivamente) (Klein, 1980; Bonnet & Queiroz, 2006).

O clima da região onde está inserida a área de estudo é do tipo Cfa (mesotérmico úmido, com verões quentes e chuvas distribuídas durante o ano) com temperatura média anual de 21,1°C, média mensal para os meses de verão de 23,5°C, e para os meses de inverno de 16,8°C. A umidade relativa do ar é considerada alta, em média de 80%, com pluviosidade anual de 1.527mm e bem distribuída durante todo o ano, não existindo estações secas e chuvosas (Bonnet & Queiroz, 2006).

O local escolhido para a captura dos Culicidae na UCAD estava inserido em uma região de floresta secundária (27°31'44,5"S, 48°30'40,4"W). Essa área apresentava uma mata com dossel com alturas variando entre 10 e 15 metros, sendo que as árvores presentes na mesma possuíam copas amplas que

impediam a incidência direta da luz solar sobre o sub-bosque da mata. Além disso, era possível observar a presença de Lianas (cipós) e epífitas como bromélias e orquídeas (Figura 2).

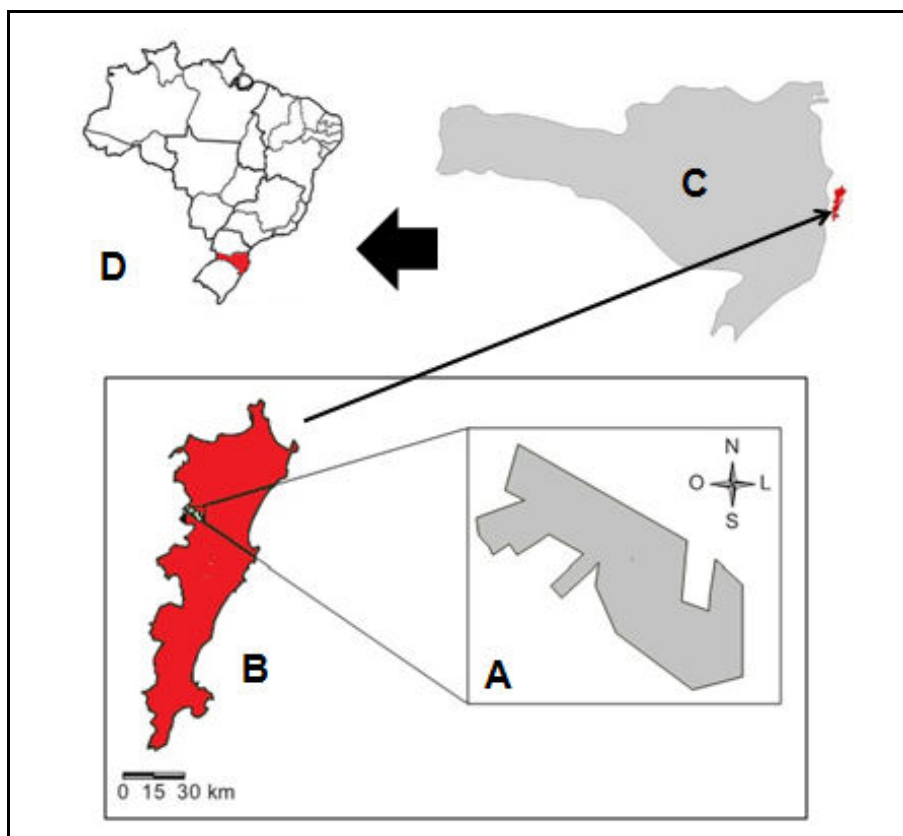


Figura 1. Localização da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (A) na Ilha de Santa Catarina (B), Estado de Santa Catarina (C), Brasil (D).



Figura 2. Área de floresta secundária localizada na Unidade de Conservação Ambiental Desterro, Ilha de Santa Catarina, Brasil, onde os adultos de Culicidae foram capturados. **A:** Vista geral do sub-bosque da mata. **B:** Vista geral do dossel da mata.

Métodos de amostragem

As coletas ocorreram entre março de 2009 e fevereiro de 2010 com periodicidade mensal. Para isso, foram utilizadas armadilhas CDC miniatura, que são constituídas por um motor de aspiração movido à bateria 12V, que produz uma coluna de movimentação de ar para o seu interior que captura o culicídeo quando este se aproxima. Esta armadilha foi originalmente descrita por Sudia & Chamberlain (1962), sendo que são utilizados como atrativos para que o mosquito se aproxime: luz artificial (capturas noturnas), gelo seco (liberação de dióxido de carbono), ou ainda, iscas vivas, como aves e roedores presos em gaiolas próximas à entrada de sucção da armadilha (Gomes *et al.*, 1987).

No presente estudo foram utilizadas armadilhas iscadas com mamíferos roedores *Mus musculus* Linnaeus, 1758, e com aves galliformes *Coturnix coturnix* Linnaeus, 1758. Foram instaladas duas armadilhas na altura do dossel da mata (12m), cada uma com um tipo de isca e separadas por uma distância

de oito metros, e duas armadilhas na altura do sub-bosque da floresta (1,5m), cada uma, também, com um tipo de isca e separadas pela mesma distância supracitada. Para equilibrar o peso da gaiola acoplada em um dos lados da armadilha onde as iscas ficavam, foi adaptada, no outro lado desta, uma garrafa de 500 ml de volume contendo água como contrapeso. Além disso, para a suspensão das armadilhas foi utilizado um sistema de roldanas instalado previamente nos galhos das árvores (Figura 3). As armadilhas funcionaram entre às 8:00 e 17:00 horas em intervalos horários alternados, dessa forma, os culicídeos foram capturados nos períodos de: 8:00- 9:00, 10:00- 11:00, 12:00- 13:00, 14:00-15:00, e 16:00- 17:00 horas.

Os culicídeos capturados em cada intervalo horário foram mortos em tubo letal contendo acetato de etila e acondicionados em pequenas caixas de papel forradas com lenço de papel e identificadas com a data, horário, tipo de isca utilizada, e estrato em que foram capturados. Posteriormente, os exemplares capturados foram levados ao laboratório para serem identificados.



Figura 3. Armadilhas tipo CDC miniatura utilizadas para a captura de Culicidae entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. **A:** Armadilha CDC instalada no dossel da mata. **B:** Armadilha CDC instalada no sub-bosque da mata.

Identificação dos Culicidae

Os culicídeos capturados foram levados ao Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) onde foram montados em alfinetes entomológicos e etiquetados de acordo com o protocolo para a família (Almeida *et al.*, 2003). Posteriormente, as fêmeas foram identificadas ao nível específico com o emprego de um estéreo microscópio.

Para a identificação dos exemplares foram utilizadas as chaves dicotômicas contidas em Lane (1953), Correa & Ramalho (1956), Consoli & Lourenço-De-Oliveira (1994), e Forattini (2002). Os gêneros e subgêneros foram abreviados de acordo com Reinert (1975). Parte do material encontra-se depositada na Coleção de Entomologia Pe. Jesus Santiago Moure do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná.

Análise dos dados

Os dados gerados foram listados e organizados em forma de tabelas através do programa Microsoft Office Excel 2007. A abundância foi obtida para cada espécie de Culicidae em valores absolutos (N) e relativos (%) para cada estação, intervalo horário, estrato vertical e tipo de atrativo. Para cada estação e combinação estrato/atrativo foi descrita a riqueza de espécies (S) e foram calculados dois índices de diversidade, o de Shannon (H'), que dá maior importância às espécies pouco encontradas na comunidade (espécies raras), e o Recíproco de Simpson (1/D), que enfatiza as espécies mais abundantes.

Estes valores de diversidade e similaridade foram obtidos a partir do programa Past 1.8. (Hammer *et al.*, 2003).

Com base nos dados coletados realizou-se, através do programa Microsoft Office Excel 2007, a curva do coletor e o esforço amostral foi avaliado através do índice de Chao, com base na fórmula $S = \text{sobs} + a^2/2.b$, onde: S é o total de espécies esperadas, sobs é o total de espécies observadas, a é o valor relativo ao número de espécies observadas uma única vez e b é o valor referente as espécies observadas duas vezes (Thompson *et al.*, 2003).

Para testar a hipótese de normalidade e homogeneidade das variáveis envolvidas no estudo, aplicou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov e Levene respectivamente. Após, para a análise comparativa das variáveis quantitativas, foram utilizados os testes não paramétrico de Kruskal-Wallis (H) e o teste paramétrico de Análise de Variância (ANOVA) um fator (F) seguido do teste *post-hoc* de Tukey, quando comparados mais de dois grupos. Dados que obtiveram significância $p < 0,05$ para o teste de ANOVA foram posteriormente submetidos ao teste de Tukey. Para a comparação de dois grupos de variáveis quantitativas foi utilizado o teste não paramétrico de Mann-Whitney (U). Todas as variáveis comparadas tiveram o seu grau de significância estabelecido em 95% ($p < 0,05$), sendo que o programa utilizado foi o Statistica 6.0.

RESULTADOS

Composição da comunidade de Culicidae

Foram coletados 602 culicídeos, distribuídos em duas subfamílias, nove gêneros, e 27 espécies. Entre as duas subfamílias registradas, Anophelinae e Culicinae, esta com espécies de duas tribos, Aedini e Sabethini. A primeira tribo foi representada por apenas um gênero e a segunda por oito gêneros (Tabela I). Os gêneros mais abundantes foram *Runchomyia*, *Wyeomyia* e *Sabethes*, que juntos representaram 76,41% de todos os culicídeos capturados (Figura 4). Estes gêneros apresentaram, respectivamente, cinco, nove, e duas espécies (Tabela I).

As espécies mais abundantes foram, *Sabethes purpureus* (Theobald, 1907), *Anopheles cruzii* Dyar & Knab, 1908, *Runchomyia humboldti* (Lane & Cerqueira, 1942), *Ru. reversa* Lane & Cerqueira, 1942, e *Wyeomyia pilicauda* (Root, 1928), representando, juntas, 61% do total de espécimes capturados. Espécies que tiveram um registro igual ou inferior a cinco exemplares ao longo dos 12 meses de coletas tiveram sua presença considerada como acidental, sendo elas: *An. bellator* Dyar & Knab, 1906, *Aedes fluviatilis* (Lutz, 1904), *Ae. scapularis* (Rondani, 1848), *Ae. serratus* (Theobald, 1901), *Isostomyia lunata* (Theobald, 1901), *Shannoniana fluviatilis* (Theobald, 1903), *Trichoprosopon compressum* Lutz, 1905, *Tr. pallidiventer* (Lutz, 1905), *Wy. pallidoventer* (Theobald, 1907), e *Wy. palmata* (Lane & Cerqueira, 1942) (Tabela I).

Tabela I. Lista de espécies de Culicidae capturadas, por subfamília e tribo, nas coletas realizadas entre março de 2009 e janeiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Subfamília	Tribo	Espécie	N (%)
Anophelinae		<i>Anopheles (Kerteszia) bellator</i> Dyar & Knab, 1906	1 (0,17)
		<i>Anopheles (Kerteszia) cruzii</i> Dyar & Knab, 1908	91 (15,12)
Culicinae	Aedini	<i>Aedes (Ochlerotatus) fluviatilis</i> (Lutz, 1904)	1 (0,17)
		<i>Aedes (Ochlerotatus) scapularis</i> (Rondani, 1848)	2 (0,33)
		<i>Aedes (Ochlerotatus) serratus</i> s.l. (Theobald, 1901)	3 (0,50)
	Sabethini	<i>Isostomyia lunata</i> (Theobald, 1901)	3 (0,50)
		<i>Limatus durhamii</i> Theobald, 1901	11 (1,84)
		<i>Onirium personatum</i> (Lutz, 1904)	22 (3,65)
		<i>Runchomyia (Runchomyia) cerquerei</i> (Stone, 1944)	22 (3,65)
		<i>Runchomyia (Runchomyia) frontosa</i> Theobald, 1903	7 (1,16)
		<i>Runchomyia (Runchomyia) humboldti</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	68 (11,29)
		<i>Runchomyia (Runchomyia) reversa</i> Lane & Cerqueira, 1942	55 (9,14)
		<i>Runchomyia (Runchomyia) theobaldi</i> Lane & Cerqueira, 1934	26 (4,32)
		<i>Sabethes (Peytonulos) aurescens</i> Lutz, 1905	28 (4,65)
		<i>Sabethes (Sabethes) purpureus</i> (Theobald, 1907)	105 (17,44)
		<i>Shannoniana fluviatilis</i> (Theobald, 1903)	1 (0,17)
		<i>Trichoprosopon compressum</i> Lutz, 1905	4 (0,66)
		<i>Trichoprosopon pallidiventer</i> (Lutz, 1905)	3 (0,50)
		<i>Wyeomyia (Phoniomyia) incaudata</i> (Root, 1928)	12 (1,99)
		<i>Wyeomyia (Phoniomyia) pallidoventer</i> (Theobald, 1907)	5 (0,83)
		<i>Wyeomyia (Phoniomyia) palmata</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	3 (0,50)
		<i>Wyeomyia (Phoniomyia) pilicauda</i> (Root, 1928)	49 (8,14)
		<i>Wyeomyia (Phoniomyia) theobaldi</i> (Lane & Cerqueira, 1942)	5 (0,83)
		<i>Wyeomyia (Phoniomyia) tripartita</i> (Bonne-Webster & Bonne, 1921)	18 (2,99)
		<i>Wyeomyia (Phoniomyia) cf. lassalli</i> Bonne-Wepster & Bonne, 1921	17 (2,82)
		<i>Wyeomyia (Prosopolepis) confusa</i> (Lutz, 1905)	36 (5,98)
		<i>Wyeomyia (Wyeomyia) limai</i> Lane & Cerqueira, 1942	4 (0,66)
Total			602 (100,00)

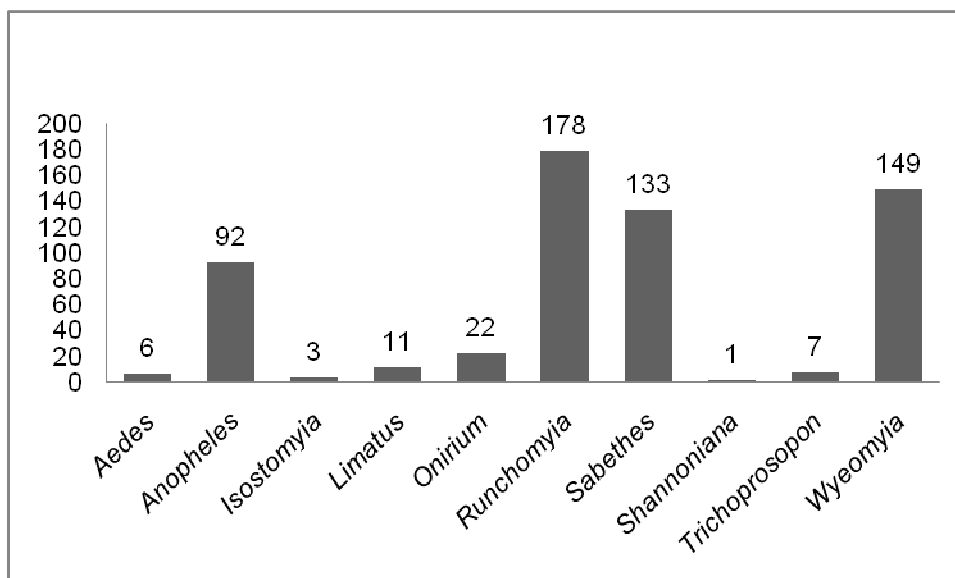


Figura 4. Abundância total de Culicidae coletados, considerando o gênero, entre março de 2009 e fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Distribuição temporal da comunidade de Culicidae

Considerando as estações ao longo do ano, foram capturados 97 (16,11%) exemplares de culicídeos durante o verão, 147 (24,42%) exemplares durante o outono, 105 (17,45%) exemplares durante o inverno, e 253 (42,02%) exemplares durante a primavera (Tabela II). A abundância média de culicídeos entre as estações foi significativamente diferente ($F= 7,71$; g.l.= 3; $p< 0,05$), sendo que durante a primavera foram registradas quantidades significativamente superiores às demais (Figura 5).

Medidas ecológicas de abundância, riqueza e diversidade foram calculadas para cada uma das estações climáticas. Os valores da diversidade de Shannon (H') e do Índice Recíproco de Simpson ($1/D$) foram muito semelhantes entre as estações (Tabela III).

O cálculo do índice de Chao demonstrou que o número de espécies esperadas neste estudo era de 31, sendo que foram registradas 27 espécies ao longo dos 12 meses de coletas. A curva do coletor indicou uma curva assintótica, o que indica que o esforço amostral foi suficiente (Figura 6).

Tabela II. Lista de espécies de Culicidae registradas para as quatro estações climáticas em coletas realizadas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Espécies	Estações			
	Verão N (%)	Outono N (%)	Inverno N (%)	Primavera N (%)
<i>Sabethes purpureus</i>	12 (12,37)	30 (20,42)	19 (18,09)	44 (17,39)
<i>Anopheles cruzii</i>	14 (14,43)	12 (8,16)	27 (25,71)	38 (15,02)
<i>Runchomyia humboldti</i>	18 (18,56)	11 (7,49)	4 (3,81)	35 (13,83)
<i>Runchomyia reversa</i>	2 (2,07)	25 (17,00)	19 (18,09)	9 (3,56)
<i>Wyeomyia pilicauda</i>	5 (5,15)	10 (6,80)	10 (9,52)	24 (9,49)
<i>Wyeomyia confusa</i>	10 (10,30)	13 (8,84)	7 (6,67)	6 (2,37)
<i>Sabethes aurescens</i>	6 (6,18)	11 (7,49)	7 (6,67)	4 (1,58)
<i>Runchomyia theobaldi</i>	6 (6,18)	0 (0,00)	0 (0,00)	20 (7,90)
<i>Onirium personatum</i>	10 (10,30)	4 (2,72)	1 (0,95)	7 (2,78)
<i>Runchomyia cerqueirai</i>	1 (1,04)	0 (0,00)	0 (0,00)	21 (8,30)
<i>Wyeomyia tripartita</i>	0 (0,00)	5 (3,40)	3 (2,86)	10 (3,95)
<i>Wyeomyia cf. lassalli</i>	3 (3,09)	6 (4,08)	2 (1,91)	6 (2,37)
<i>Wyeomyia incaudata</i>	1 (1,04)	8 (5,44)	1 (0,95)	2 (0,79)
<i>Limatus durhami</i>	4 (4,12)	2 (1,36)	0 (0,00)	5 (1,98)
<i>Runchomyia frontosa</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	7 (2,78)
<i>Wyeomyia theobaldi</i>	0 (0,00)	3 (2,04)	0 (0,00)	2 (0,79)
<i>Wyeomyia pallidoventer</i>	3 (3,09)	0 (0,00)	2 (1,91)	0 (0,00)
<i>Trichoprosopon compressum</i>	1 (1,04)	0 (0,00)	1 (0,95)	2 (0,79)
<i>Wyeomyia limai</i>	0 (0,00)	1 (0,68)	0 (0,00)	3 (1,19)
<i>Aedes serratus</i> s.l.	0 (0,00)	3 (2,04)	0 (0,00)	0 (0,00)
<i>Isostomyia lunata</i>	0 (0,00)	1 (0,68)	1 (0,95)	1 (0,39)
<i>Trichoprosopon pallidiventer</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	3 (1,19)
<i>Wyeomyia palmata</i>	1 (1,04)	1 (0,68)	0 (0,00)	1 (0,39)
<i>Aedes scapularis</i>	0 (0,00)	1 (0,68)	0 (0,00)	1 (0,39)
<i>Aedes fluviatilis</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,39)
<i>Anopheles bellator</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,39)
<i>Shannoniana fluviatilis</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,95)	0 (0,00)
Total	97 (100,00)	147 (100,00)	105 (100,00)	253 (100,00)

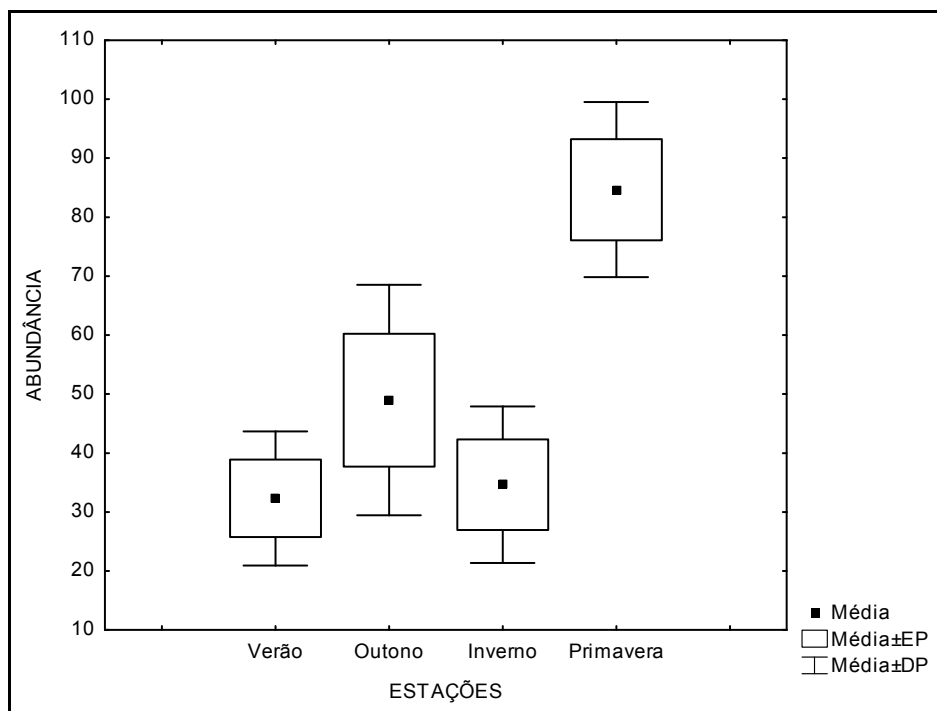


Figura 5. Abundância média de Culicidae capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Tabela III. Medidas ecológicas dos Culicidae registradas para as quatro estações climáticas em coletas realizadas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Estações	Abundância (N)	Riqueza (S)	Shannon (H')	Simpson (1/D)
Verão	97	16	2,43	0,89
Outono	147	18	2,47	0,89
Inverno	105	15	2,15	0,85
Primavera	253	24	2,59	0,90

N: número de indivíduos. **S:** número de espécies. **H':** índice de diversidade de Shannon. **1/D:** índice de diversidade Recíproco de Simpson.

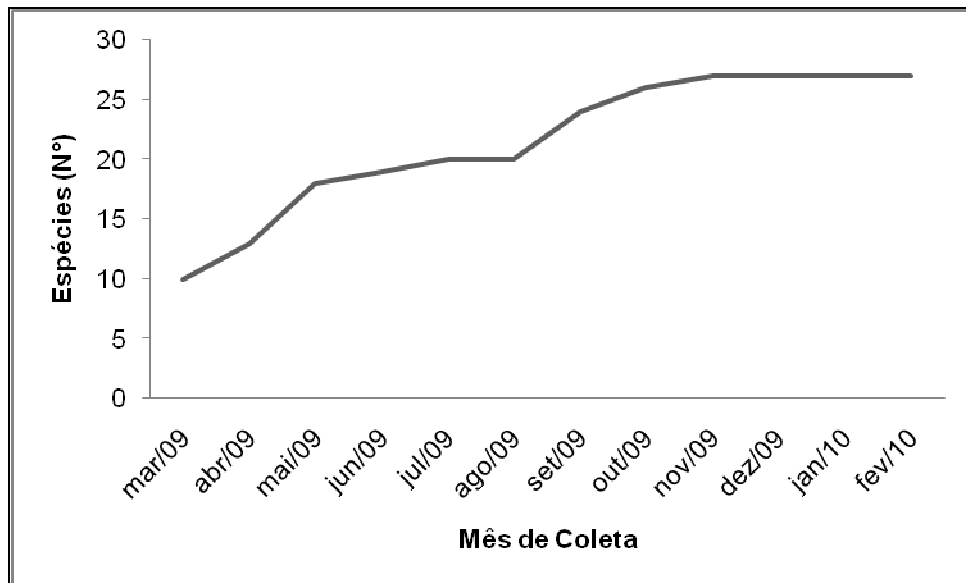


Figura 6. Curva do coletor calculada para as coletas de Culicidae realizadas entre março de 2009 e fevereiro de 2010 em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Das cinco espécies de Culicidae mais abundantes, *Sa. purpureus* ($F=12,78$; g.l.= 3; $p<0,05$) (Figura 7), *Ru. humboldti* ($F=16,82$; g.l.= 3; $p<0,05$) (Figura 8), e *Wy. pilicauda* ($F=17,84$; g.l.= 3; $p<0,05$) (Figura 9) apresentaram uma atividade significativamente superior durante a primavera. Já *An. cruzii* ($F=3,90$; g.l.= 3; $p>0,05$) (Figura 10) e *Ru. reversa* ($F=2,29$; g.l.= 3; $p>0,05$) (Figura 11) não apresentaram diferenças significativas de atividade durante as estações.

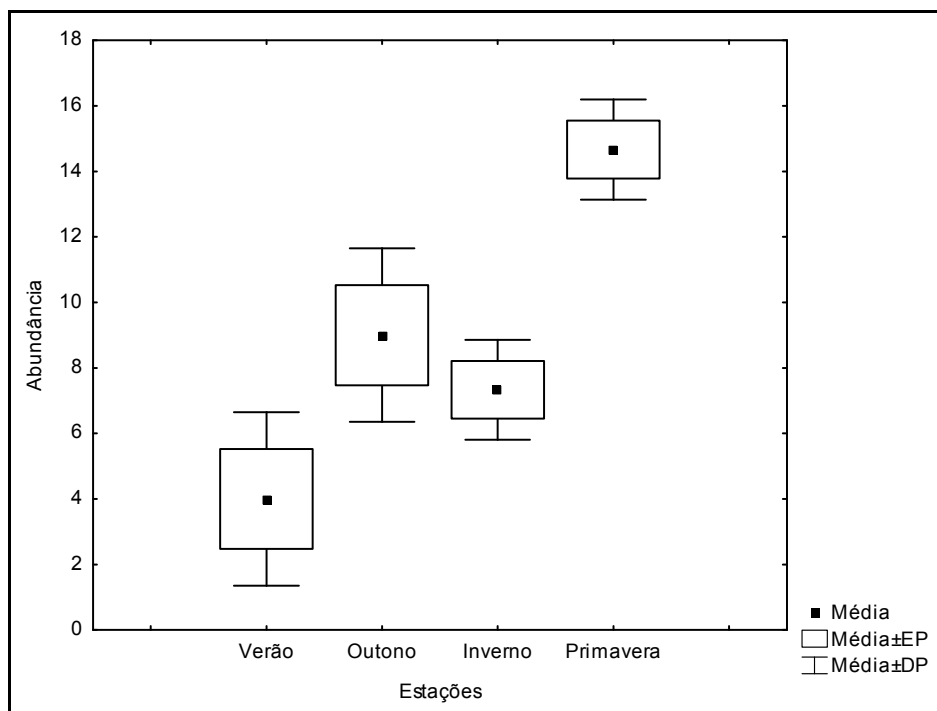


Figura 7. Abundância média de *Sabethes purpureus* capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

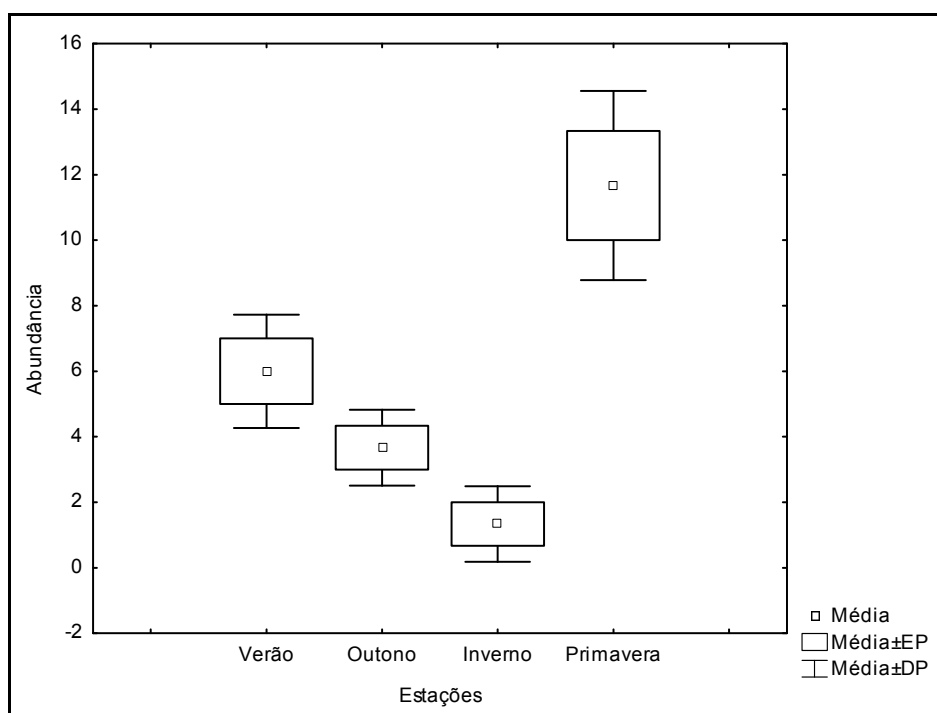


Figura 8. Abundância média de *Runchomyia humboldti* capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

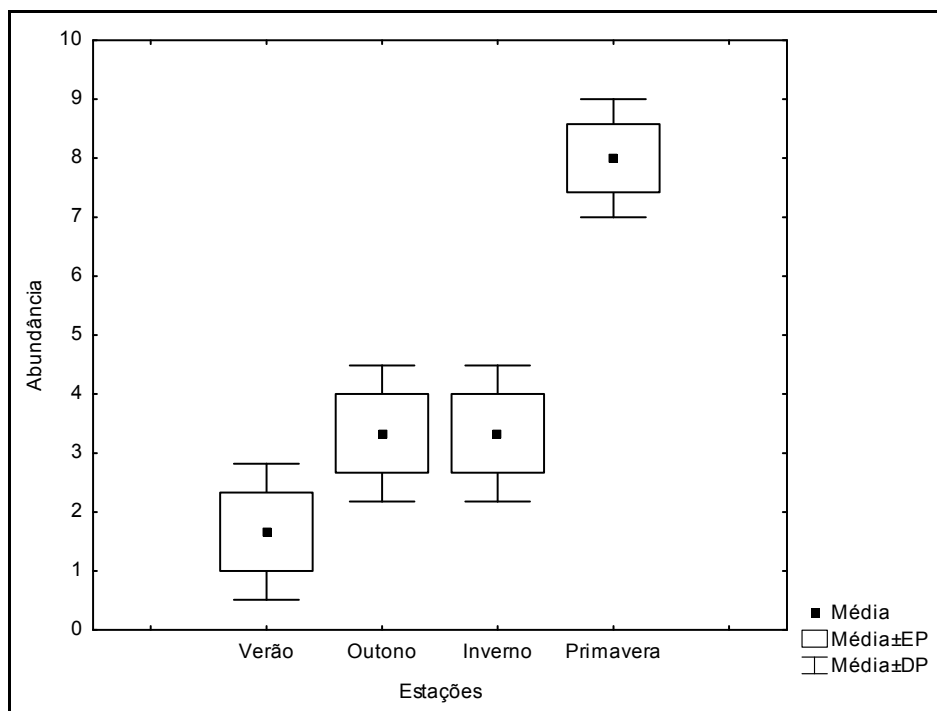


Figura 9. Abundância média de *Wyeomyia pilicauda* capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

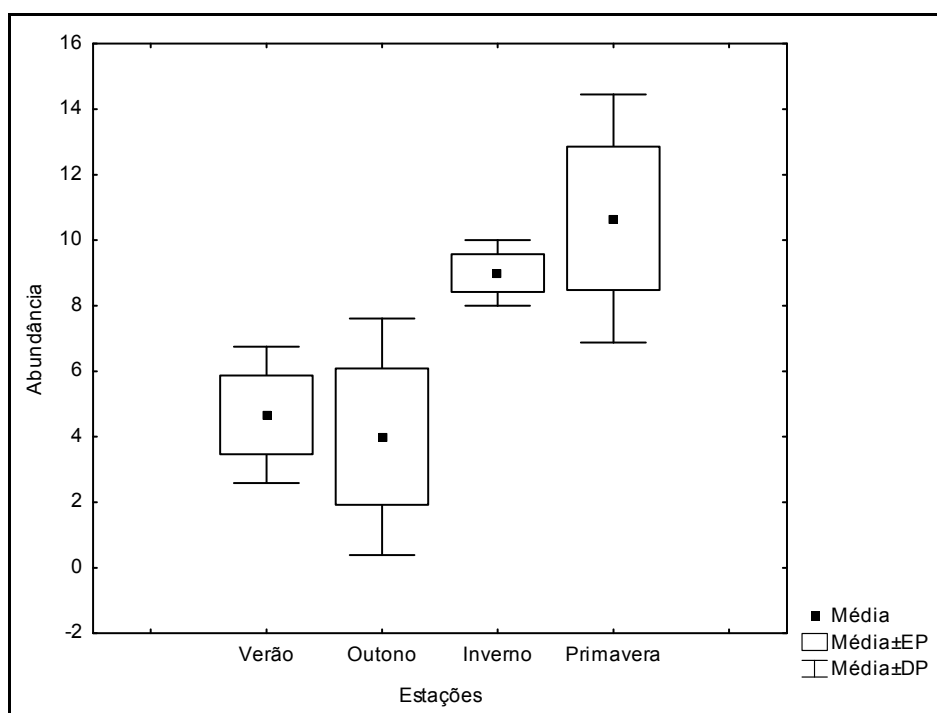


Figura 10. Abundância média de *Anopheles cruzii* capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

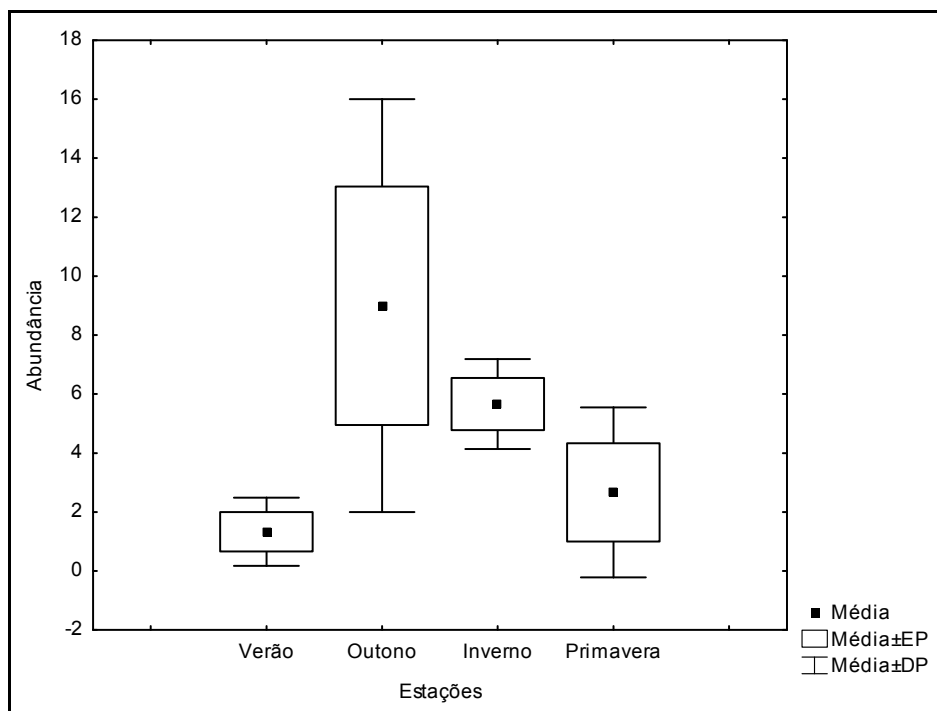


Figura 11. Abundância média de *Runchomyia reversa* capturados nas estações climáticas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Considerando os intervalos horários das coletas, foram obtidos na totalidade, 136 (22,59%) exemplares de culicídeos entre 8:00 e 9:00h, 113 (18,77%) exemplares entre 10:00 e 11:00h, 134 (22,26%) exemplares entre 12:00 e 13:00h, 116 (19,27%) exemplares entre 14:00 e 15:00h, e 103 (17,11%) exemplares entre 16:00 e 17:00h (Tabela IV). No entanto, a distribuição das médias de culicídeos capturados ao longo dos períodos horários não apresentou diferenças significativas ($F= 0,51$; g.l.= 4; $p> 0,05$) (Figura 12).

Tabela IV. Lista de espécies de Culicidae registradas nos diferentes intervalos horários de coletas realizadas no período diurno entre março de 2009 e fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Espécies	Intervalos Horários				
	8:00- 9:00	10:00- 11:00	12:00- 13:00	14:00- 15:00	16:00- 17:00
	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
<i>Sabethes purpureus</i>	18 (13,24)	21 (18,58)	23 (17,16)	24 (20,69)	19 (18,45)
<i>Anopheles cruzii</i>	20 (14,72)	4 (3,54)	31 (23,13)	23 (19,83)	13 (12,62)
<i>Runchomyia humboldti</i>	31 (22,79)	18 (15,93)	7 (5,22)	4 (3,45)	8 (7,77)
<i>Runchomyia reversa</i>	10 (7,35)	21 (18,58)	7 (5,22)	9 (7,76)	8 (7,77)
<i>Wyeomyia pilicauda</i>	7 (5,15)	11 (9,73)	8 (5,97)	12 (10,34)	11 (10,68)
<i>Wyeomyia confusa</i>	4 (2,94)	4 (3,54)	11 (8,21)	5 (4,31)	12 (11,65)
<i>Sabethes aurescens</i>	1 (0,73)	5 (4,42)	9 (6,72)	8 (6,90)	5 (4,85)
<i>Runchomyia theobaldi</i>	8 (5,88)	6 (5,31)	7 (5,22)	3 (2,59)	2 (1,94)
<i>Onirium personatum</i>	13 (9,56)	4 (3,54)	3 (2,24)	2 (1,72)	0 (0,00)
<i>Runchomyia cerqueirai</i>	8 (5,88)	1 (0,89)	2 (1,49)	4 (3,45)	7 (7,80)
<i>Wyeomyia tripartita</i>	2 (1,48)	4 (3,54)	4 (2,98)	3 (2,59)	5 (4,85)
<i>Wyeomyia cf. lassalli</i>	0 (0,00)	2 (1,77)	8 (5,97)	7 (6,03)	0 (0,00)
<i>Wyeomyia incaudata</i>	4 (2,94)	0 (0,00)	4 (2,98)	1 (0,86)	3 (2,91)
<i>Limatus durhami</i>	1 (0,73)	5 (4,42)	0 (0,00)	1 (0,86)	4 (3,88)
<i>Runchomyia frontosa</i>	0 (0,00)	2 (1,77)	3 (2,24)	1 (0,86)	1 (0,97)
<i>Wyeomyia theobaldi</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	3 (2,24)	1 (0,86)	1 (0,97)
<i>Wyeomyia pallidiventer</i>	1 (0,73)	0 (0,00)	2 (1,49)	2 (1,72)	0 (0,00)
<i>Trichoprosopon compressum</i>	2 (1,48)	0 (0,00)	0 (0,00)	2 (1,72)	0 (0,00)
<i>Wyeomyia limai</i>	1 (0,73)	2 (1,77)	1 (0,76)	0 (0,00)	0 (0,00)
<i>Aedes serratus</i> s.l.	1 (0,73)	1 (0,89)	0 (0,00)	1 (0,86)	0 (0,00)
<i>Isostomyia lunata</i>	1 (0,73)	1 (0,89)	1 (0,76)	0 (0,00)	0 (0,00)
<i>Trichoprosopon pallidiventer</i>	2 (1,48)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,97)
<i>Wyeomyia palmata</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,86)	2 (1,94)
<i>Aedes scapularis</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,86)	1 (0,97)
<i>Aedes fluviatilis</i>	0 (0,00)	1 (0,89)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
<i>Anopheles bellator</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,86)	0 (0,00)
<i>Shannoniana fluviatilis</i>	1 (0,73)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
Total	136 (100,00)	113 (100,00)	134 (100,00)	116 (100,00)	103 (100,00)

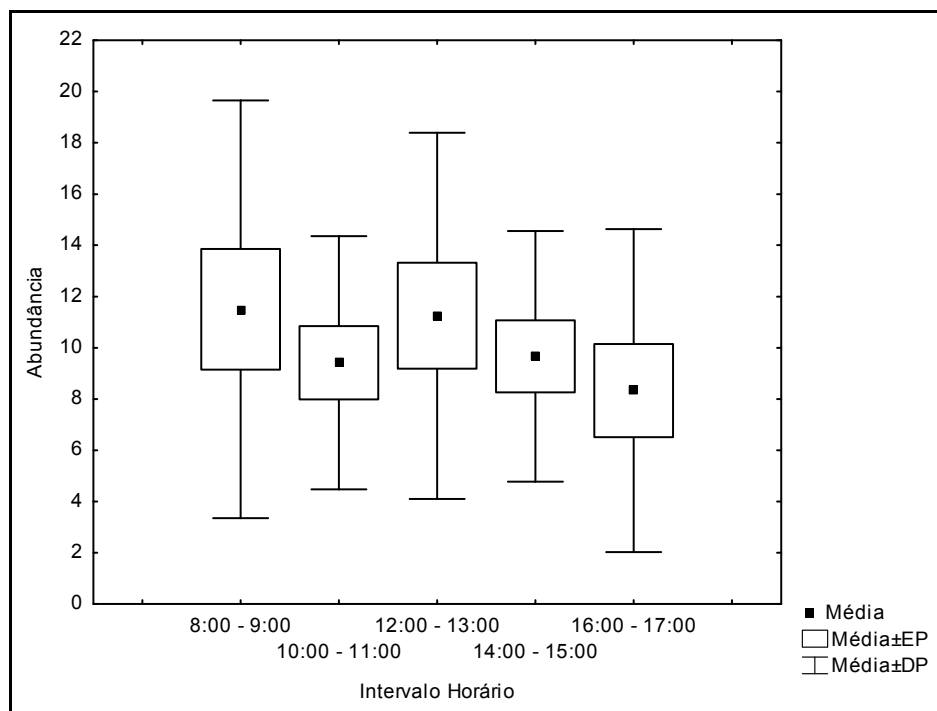


Figura 12. Abundância média de Culicidae capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 e fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Entre as cinco espécies mais abundantes, *Sa. purpureus* ($F = 0,18$; g.l.= 4; $p > 0,05$) (Figura 13), *An. cruzii* ($F = 2,05$; g.l.= 4; $p > 0,05$) (Figura 14), e *Wy. pilicauda* ($F = 0,29$; g.l.= 4; $p > 0,05$) (Figura 15) não apresentaram diferenças significativas em suas abundâncias médias ao longo dos diferentes intervalos horários de capturas, ou seja, tiveram uma atividade constante ao longo do período amostrado. *Ruchomyia humboldti* apresentou maior atividade no intervalo horário entre 8:00 e 9:00 horas, seguido do intervalo horário entre 10:00 e 11:00 horas. Após esse período inicial, a atividade da espécie reduziu significativamente, mantendo-se constante até o final ($F = 25,29$; g.l.= 4; $p < 0,05$) (Figura 16). *Ruchomyia reversa* apresentou maior atividade no intervalo horário entre 10:00 e 11:00 horas ($F = 4,69$; g.l.= 4; $p < 0,05$) (Figura 17).

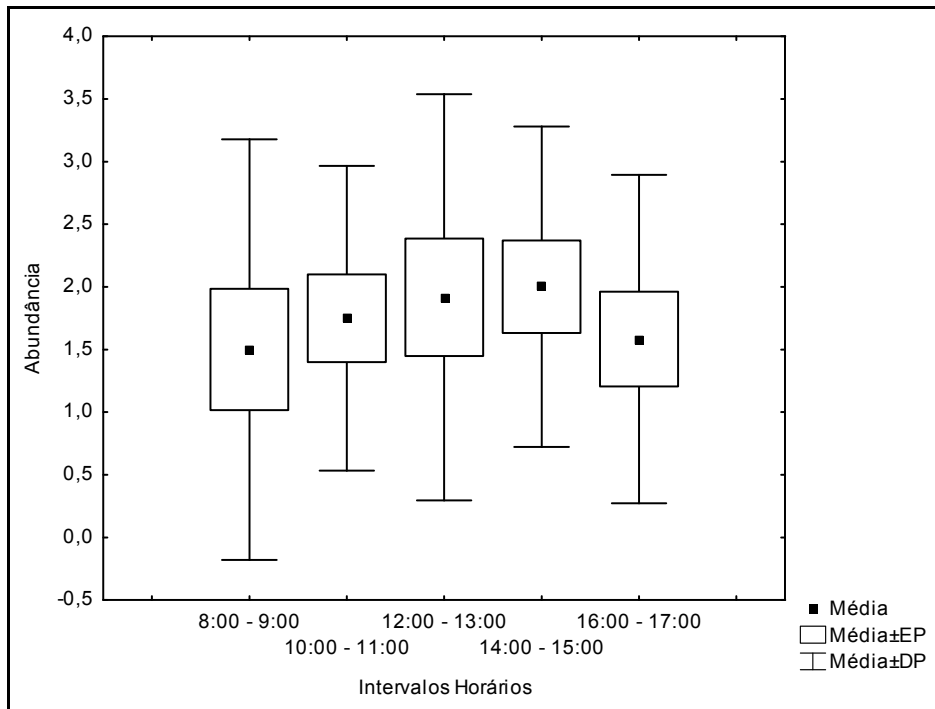


Figura 13. Abundância média de *Sabethes purpureus* capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 e fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

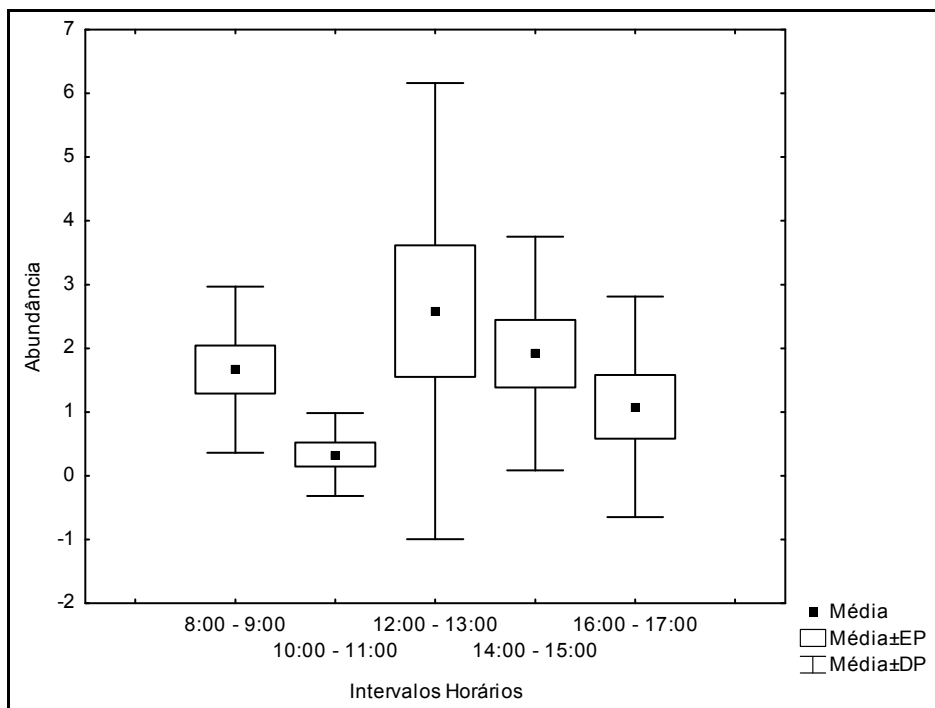


Figura 14. Abundância média de *Anopheles cruzii* capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

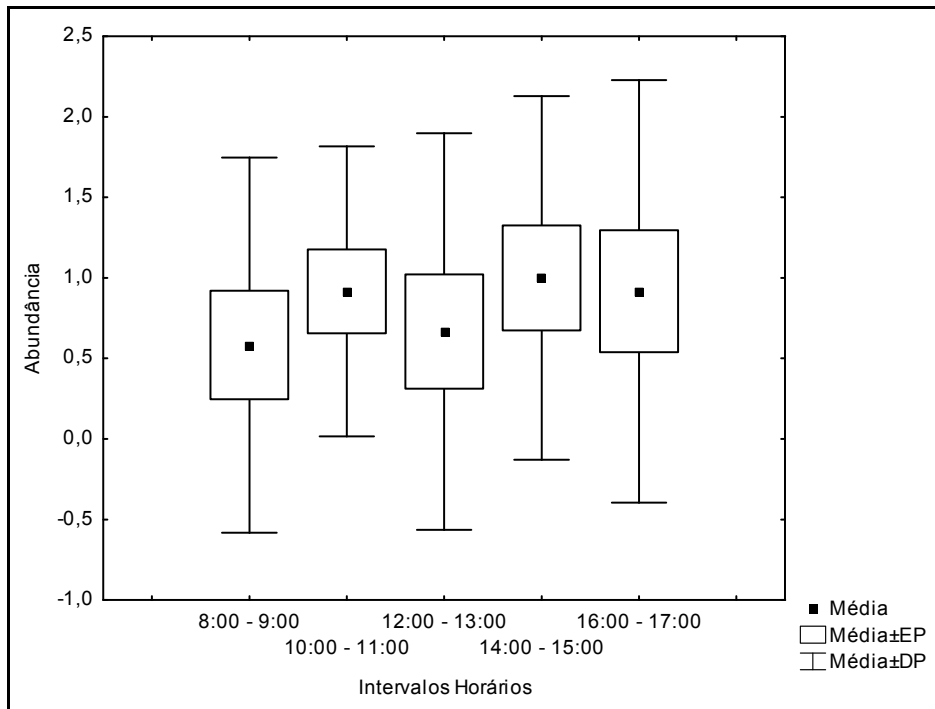


Figura 15. Abundância média de *Wyeomyia pilicauda* capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

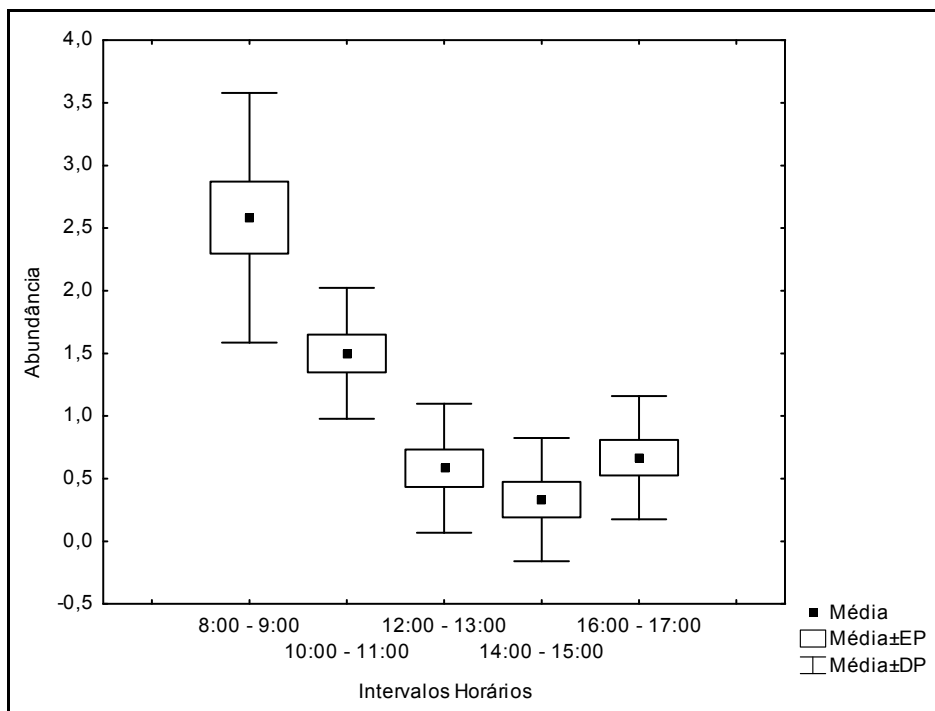


Figura 16. Abundância média de *Runchomyia humboldti* capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

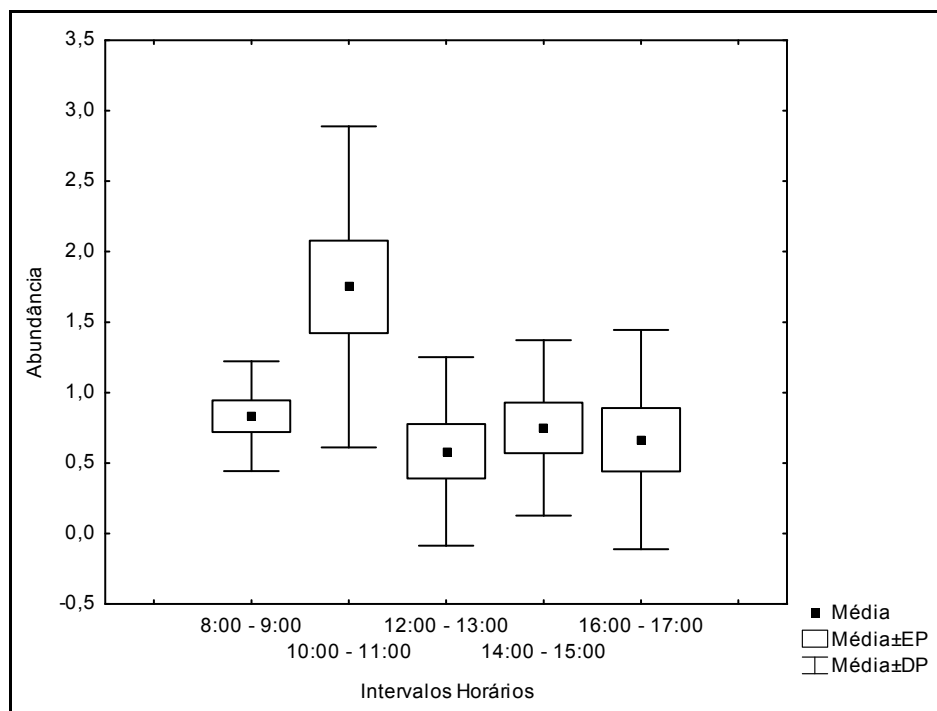


Figura 17. Abundância média de *Runchomyia reversa* capturados em diferentes intervalos horários no período diurno entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Distribuição espacial e preferência por hospedeiro da comunidade de Culicidae

As capturas dos culicídeos foram realizadas em dois estratos verticais da mata com dois tipos de atrativos nas armadilhas. No total, foram capturados no dossel da mata 203 indivíduos, sendo que 99 (16,44%) foram obtidos em armadilhas que continham aves como atrativo e 104 (17,28%) foram obtidos naquelas que continham mamíferos. No sub-bosque da mata foram coletados 399 culicídeos, sendo que 223 (37,04%) foram obtidos em armadilhas iscadas com aves e 176 (29,24%) foram capturados em armadilhas iscadas com mamíferos. As espécies mais abundantes observadas em armadilhas instaladas no dossel foram *Sa. purpureus* (36,36%), naquelas iscadas com aves, e *An. cruzii* (15,38%), naquelas iscadas com mamíferos. Em armadilhas

instaladas na altura do sub-bosque, as espécies mais abundantes também foram *Sa. purpureus* (22,87%) naquelas iscadas com aves, e *An. cruzii* (21,59%) naquelas iscadas com mamíferos (Tabela V).

As medidas ecológicas de abundância, riqueza e diversidade foram calculadas para cada uma das combinações altura/atrativo utilizados para a captura dos Culicidae. Os valores de diversidade mostraram-se muito semelhantes entre os diferentes tipos de combinações estrato/atrativo, sendo que para os índices de Shannon (H') e Recíproco de Simpson ($1/D$), os maiores valores foram registrados na combinação Dossel/Mamífero, já os menores valores foram obtidos na combinação Dossel/Ave (Tabela VI).

A matriz de similaridade obtida a partir do cálculo do índice de Bray-Curtis indicou uma similaridade de, aproximadamente, 70% entre a fauna de Culicidae obtida a partir de aves e de mamíferos no sub-bosque da mata. Além disso, a composição da comunidade de Culicidae do sub-bosque mostrou-se similar em 60% com aquela obtida a partir de armadilhas com mamíferos no dossel e em 55% com aquela obtida a partir de armadilhas contendo aves no dossel (Figura 18).

Tabela V. Lista de espécies capturadas em diferentes alturas na mata (Dossel e Sub-bosque), e com diferentes atrativos (Ave e Mamífero) entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Espécie	Dossel		Sub-bosque	
	Ave N (%)	Mamífero N (%)	Ave N (%)	Mamífero N (%)
<i>Sabethes purpureus</i>	36 (36,36)	9 (8,65)	51 (22,87)	9 (5,11)
<i>Anopheles cruzii</i>	12 (12,12)	16 (15,38)	25 (11,21)	38 (21,59)
<i>Runchomyia humboldti</i>	5 (5,05)	15 (14,42)	24 (10,76)	24 (13,64)
<i>Runchomyia reversa</i>	2 (2,02)	11 (10,58)	11 (4,93)	31 (17,61)
<i>Wyeomyia pilicauda</i>	11 (11,11)	6 (5,77)	21 (9,42)	11 (6,25)
<i>Wyeomyia confusa</i>	6 (6,06)	8 (7,69)	15 (6,73)	7 (3,98)

<i>Sabethes aurescens</i>	7 (7,07)	0 (0,00)	15 (6,73)	6 (3,41)
<i>Runchomyia theobaldi</i>	5 (5,05)	3 (2,88)	10 (4,48)	8 (4,54)
<i>Onirium personatum</i>	2 (2,02)	4 (3,85)	7 (3,14)	9 (5,11)
<i>Runchomyia cerqueirai</i>	2 (2,02)	10 (9,61)	8 (3,59)	2 (1,14)
<i>Wyeomyia tripartita</i>	2 (2,02)	4 (3,85)	5 (2,24)	7 (3,98)
<i>Wyeomyia cf. lassalli</i>	3 (3,03)	1 (0,96)	6 (2,69)	7 (3,98)
<i>Wyeomyia incaudata</i>	1 (1,01)	2 (1,92)	5 (2,24)	4 (2,27)
<i>Limatus durhami</i>	0 (0,00)	4 (3,85)	5 (2,24)	2 (1,14)
<i>Runchomyia frontosa</i>	0 (0,00)	5 (4,81)	1 (0,45)	1 (0,57)
<i>Wyeomyia theobaldi</i>	1 (1,01)	1 (0,96)	2 (0,90)	1 (0,57)
<i>Wyeomyia pallidiventer</i>	0 (0,00)	1 (0,96)	2 (0,90)	2 (1,14)
<i>Trichoprosopon compressum</i>	0 (0,00)	1 (0,96)	3 (1,34)	0 (0,00)
<i>Wyeomyia limai</i>	1 (1,01)	0 (0,00)	2 (0,90)	1 (0,57)
<i>Aedes serratus</i> s.l.	1 (1,01)	0 (0,00)	2 (0,90)	0 (0,00)
<i>Isostomyia lunata</i>	1 (1,01)	0 (0,00)	0 (0,00)	2 (1,14)
<i>Trichoprosopon pallidiventer</i>	0 (0,00)	2 (1,92)	1 (0,45)	0 (0,00)
<i>Wyeomyia palmata</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)	3 (1,70)
<i>Aedes scapularis</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,45)	1 (0,57)
<i>Aedes fluviatilis</i>	0 (0,00)	1 (0,96)	0 (0,00)	0 (0,00)
<i>Anopheles bellator</i>	1 (1,01)	0 (0,00)	0 (0,00)	0 (0,00)
<i>Shannoniana fluviatilis</i>	0 (0,00)	0 (0,00)	1 (0,45)	0 (0,00)
Total	99 (100,00)	104 (100,00)	223 (100,00)	176 (100,00)

Tabela VI. Medidas ecológicas dos Culicidae registradas para armadilhas no dossel da mata iscadas com aves e mamíferos e para armadilhas no sub-bosque da mata iscadas com aves e mamíferos em coletas realizadas entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

Alturas	Abundância (N)	Riqueza (S)	Shannon (H')	Simpson (1/D)
Dossel/ Ave	99	18	2,23	0,82
Dossel/ Mamífero	104	19	2,61	0,91
Sub-bosque/ Ave	223	23	2,60	0,90
Sub-bosque/ Mamífero	176	21	2,50	0,88

O conjunto de armadilhas instalado no sub-bosque da mata apresentou uma quantidade significativamente superior de culicídeos em relação ao conjunto instalados no dossel ($U= 115,50$; $p<0,05$), indicando maior atividade dos Culicidae nesse estrato (Figura 19). Tanto no sub-bosque ($U= 49,00$; $p>0,05$), quanto no dossel ($U= 72,00$; $p>0,05$), não foram observadas preferências por atrativos (Figura 20).

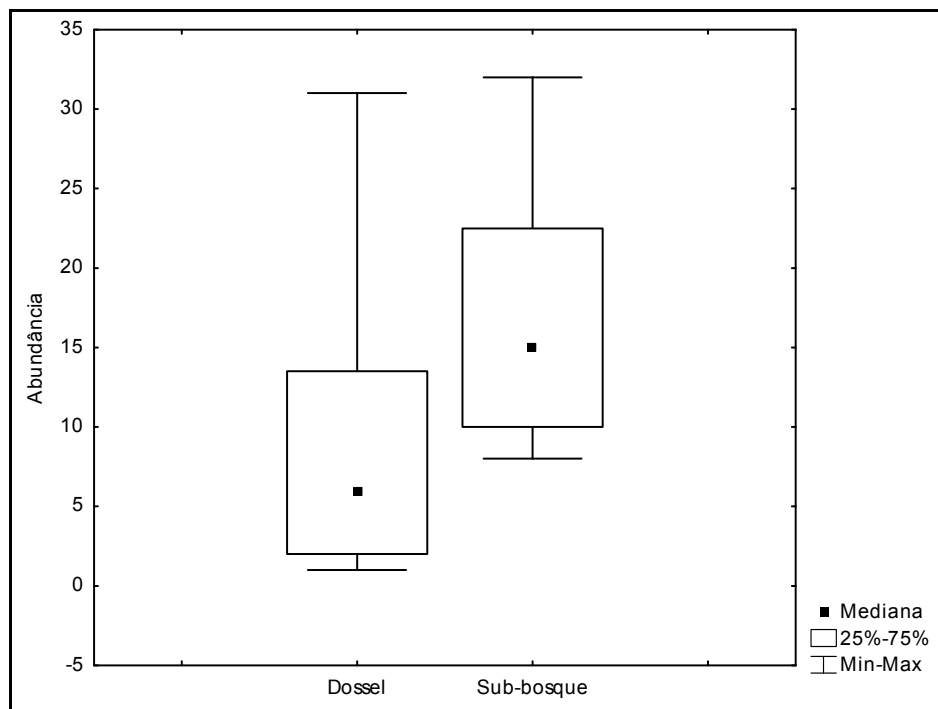


Figura 18. Abundância de Culicidae capturados com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

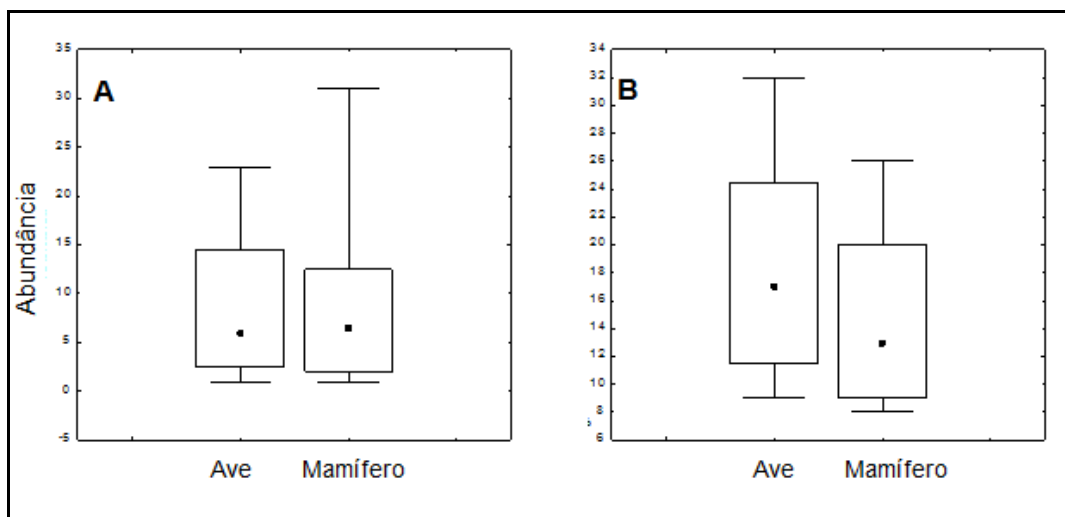


Figura 19. Abundância de Culicidae capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.

Ao analisar as cinco espécies mais abundantes nas coletas, *Sa. purpureus* não apresentou diferenças significativas de atividade entre o dossel e o sub-bosque da mata ($U = 253,50$; $p > 0,05$) (Figura 21). No entanto, foram capturados mais exemplares desta espécie em aves do que mamíferos na realização do repasto sanguíneo, tanto no dossel ($U = 34,00$; $p < 0,05$), quanto no sub-bosque ($U = 15,00$; $p < 0,05$) (Figura 22). Já *Wy. pilicauda*, também não apresentou estratificação vertical de atividade ($U = 206,00$; $p > 0,05$) (Figura 23), não foi evidenciada preferência por atrativos no dossel ($U = 63,00$; $p > 0,05$) e no sub-bosque ($U = 54,50$; $p > 0,05$) (Figura 24).

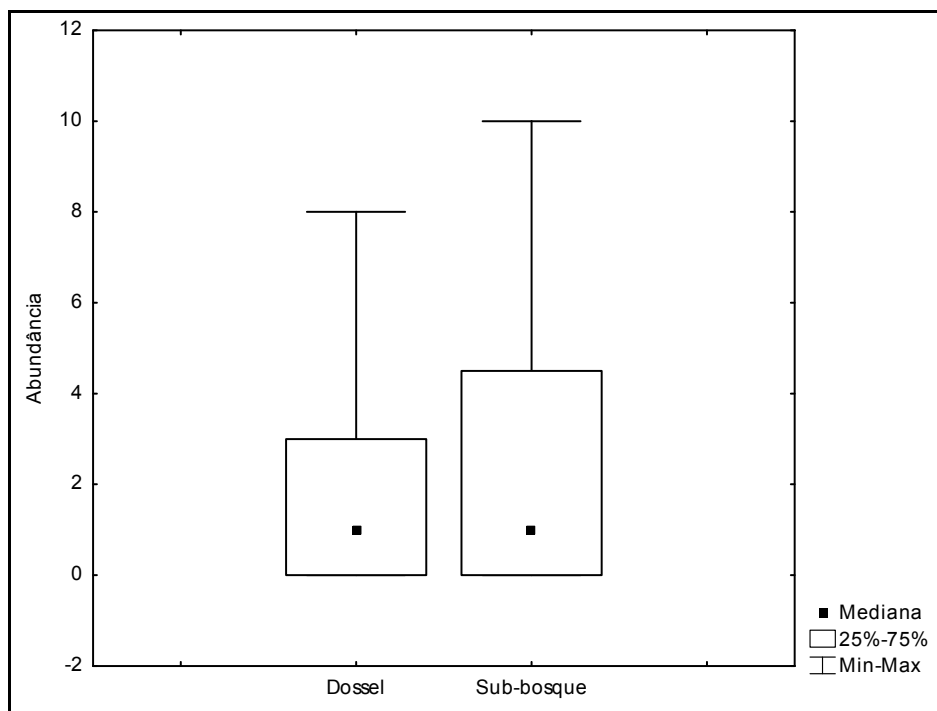


Figura 20. Abundância de *Sabethes purpureus* capturados com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

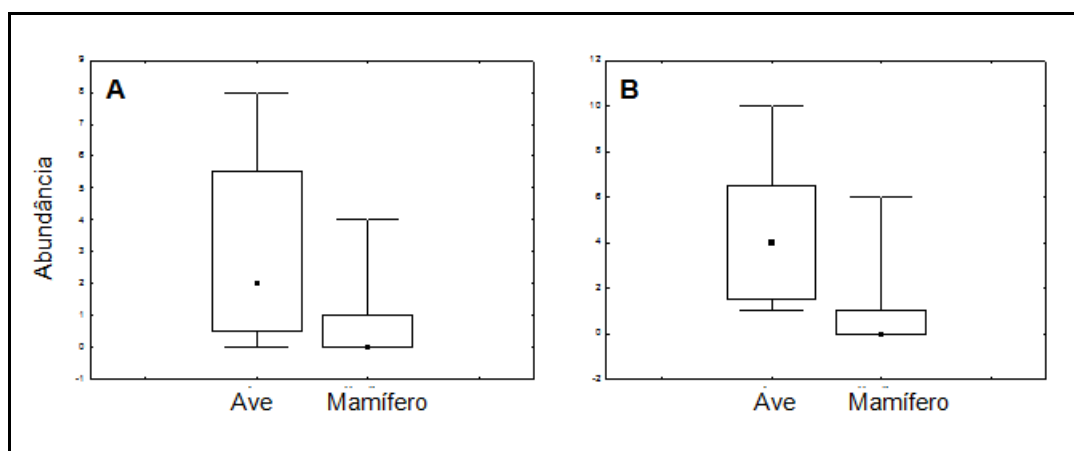


Figura 21. Abundância de *Sabethes purpureus* capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.

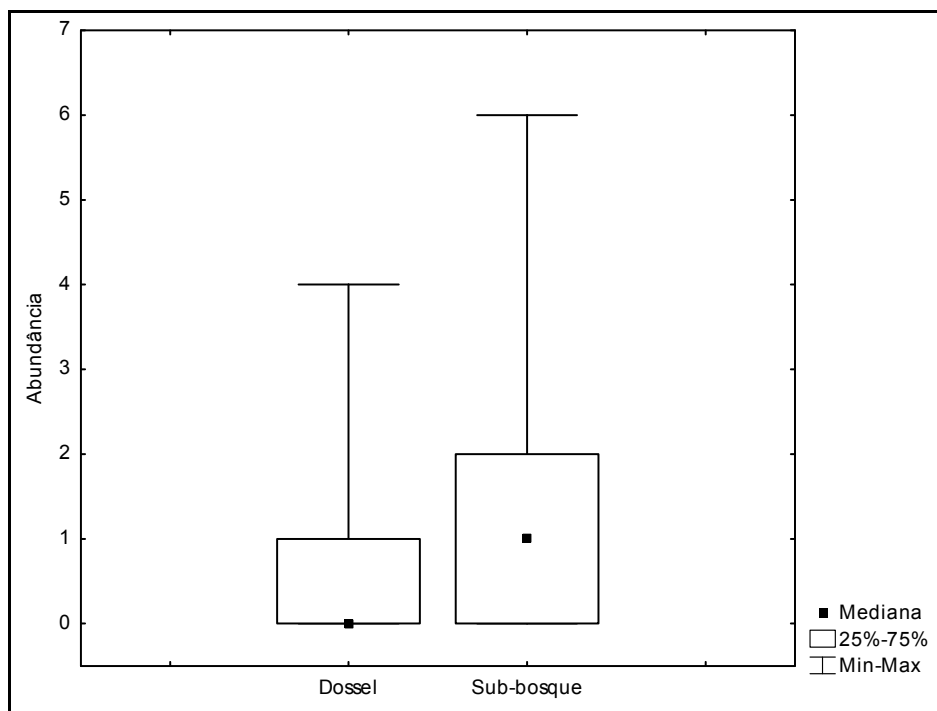


Figura 22. Abundância de *Wyeomyia pilicauda* capturadas com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

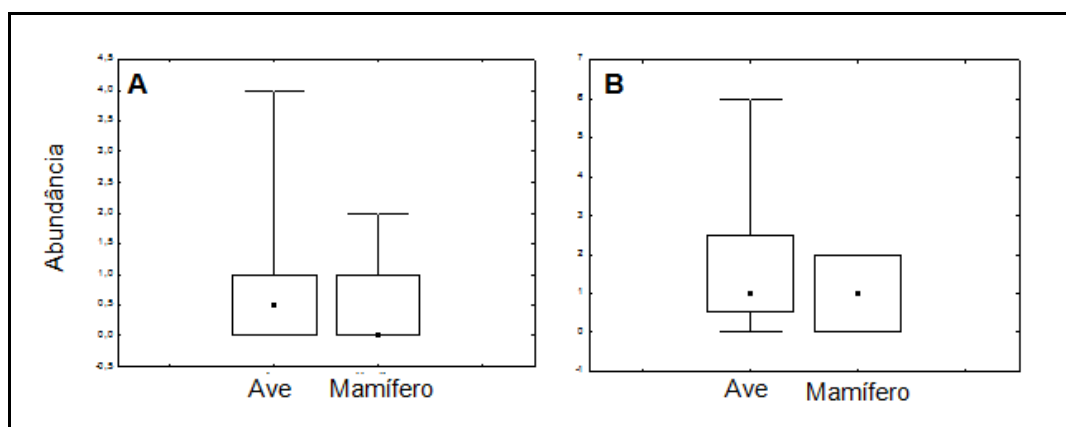


Figura 23. Abundância de *Wyeomyia pilicauda* capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.

Espécies como *An. cruzii* ($U = 170,50$; $p < 0,05$) (Figura 25), *Ru. humboldti* ($U = 184,50$; $p < 0,05$) (Figura 26), e *Ru. reversa* ($U = 196,00$; $p < 0,05$) (Figura 27) apresentaram maior atividade no sub-bosque em relação ao dossel da mata,

demonstrando assim, uma estratificação vertical em suas atividades. Em relação à atração por aves e mamíferos, *An. cruzii* e *Ru. humboldti* não apresentaram preferências significativas, tanto no dossel (*An. cruzii* - $U = 70,50$; $p > 0,05$; *Ru. humboldti* - $U = 57,00$; $p > 0,05$) como no sub-bosque (*An. cruzii* - $U = 47,50$; $p > 0,05$; *Ru. humboldti* - $U = 62,00$; $p > 0,05$), por nenhum desses atrativos (Figuras 28 e 29). Já *Ru. reversa* apresentou uma preferência por mamíferos em relação às aves tanto no dossel ($U = 33,00$; $p < 0,05$) como no sub-bosque ($U = 24,00$; $p < 0,05$) (Figura 30).

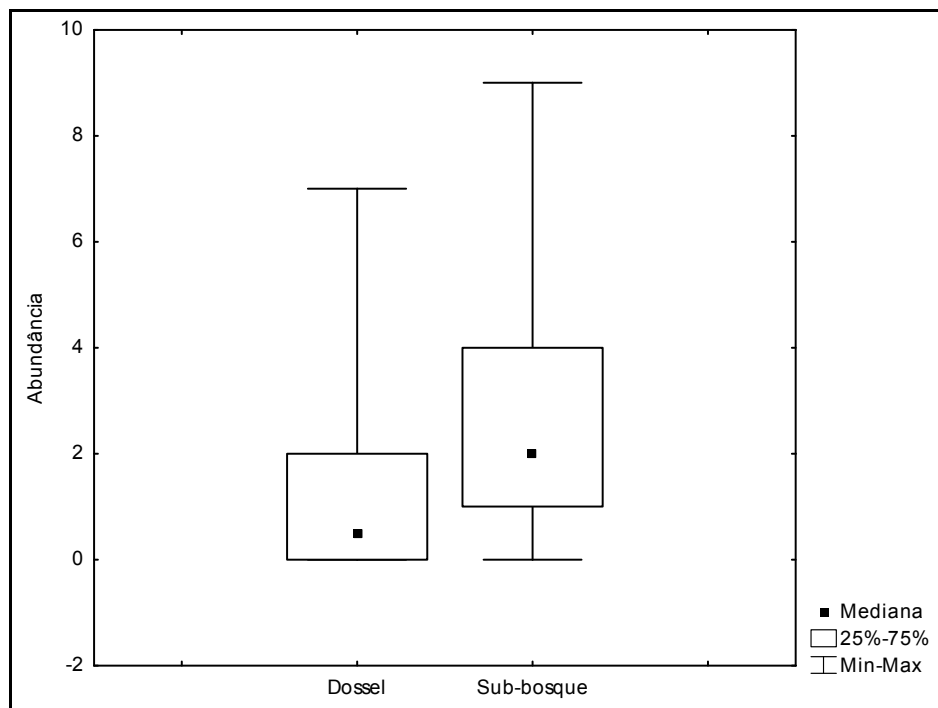


Figura 24. Abundância de *Anopheles cruzii* capturados com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

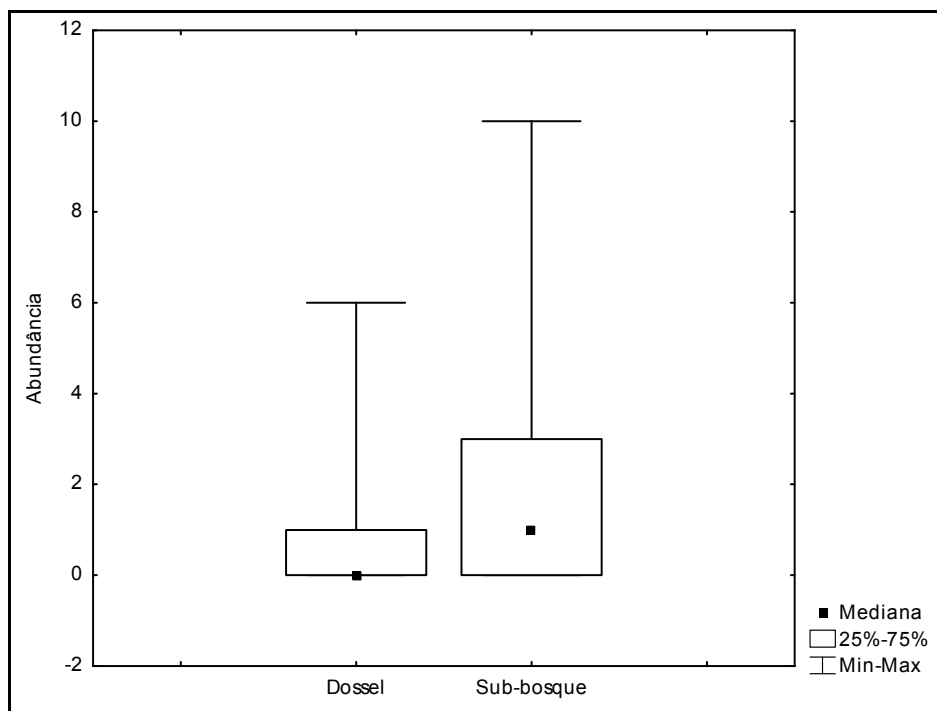


Figura 25. Abundância de *Runchomyia humboldti* capturados com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

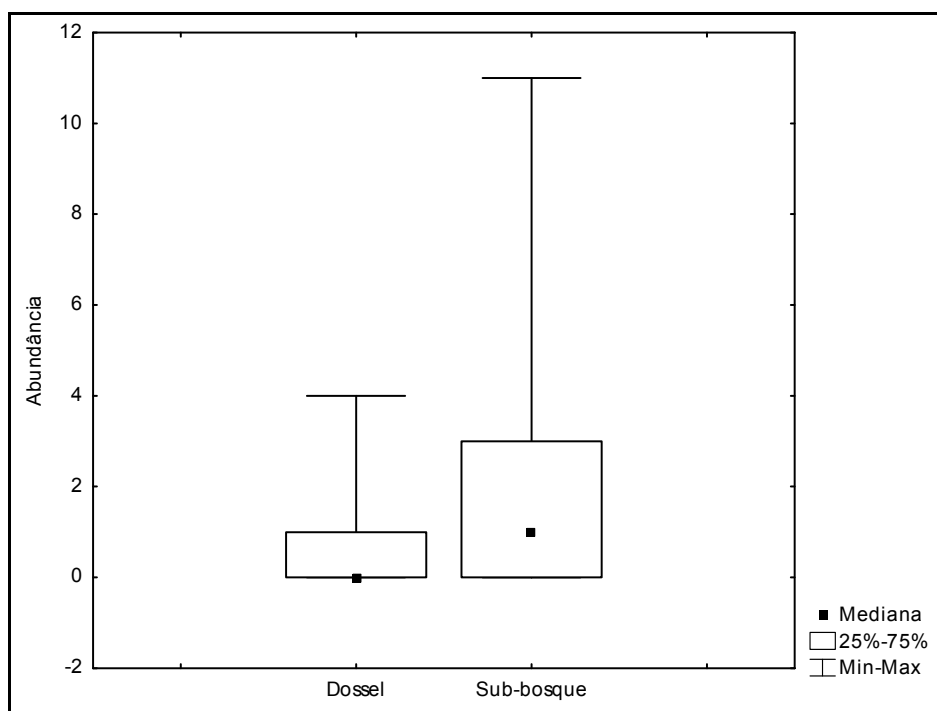


Figura 26. Abundância de *Runchomyia reversa* capturadas com armadilhas CDC no dossel e sub-bosque da mata entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC.

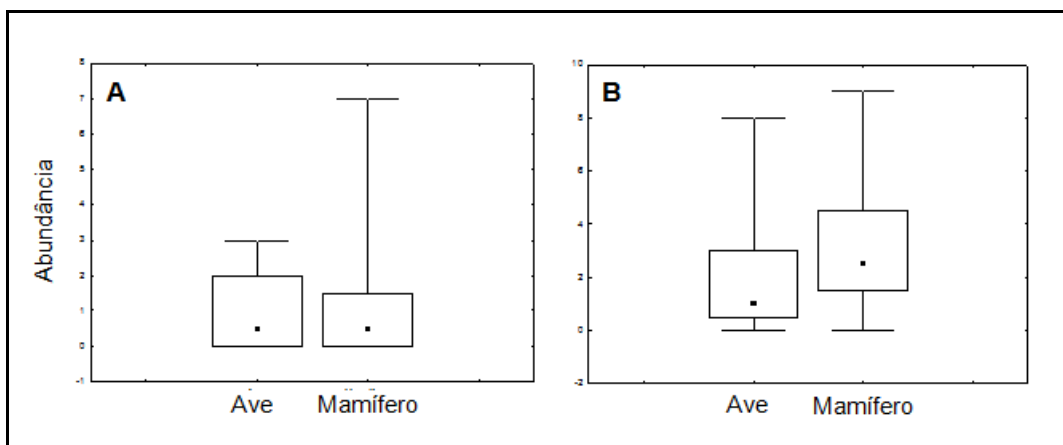


Figura 27. Abundância de *Anopheles cruzii* capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.

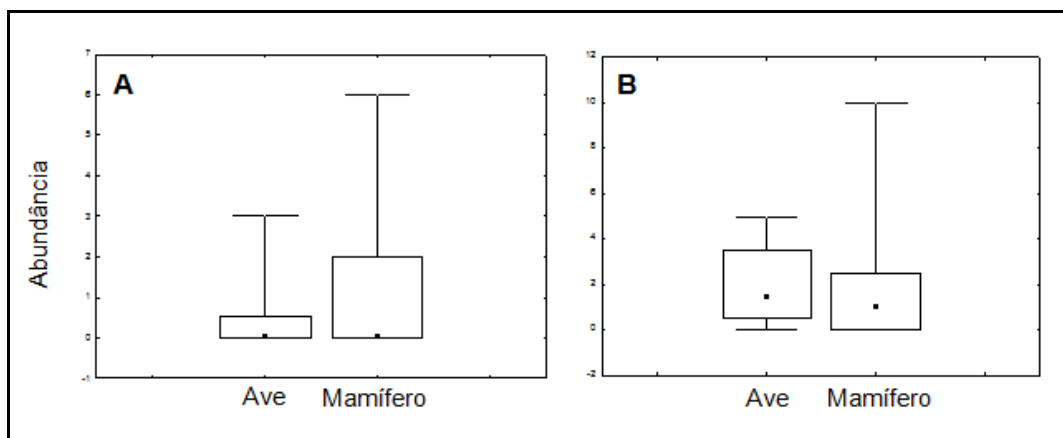


Figura 28. Abundância de *Runchomyia humboldti* capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.

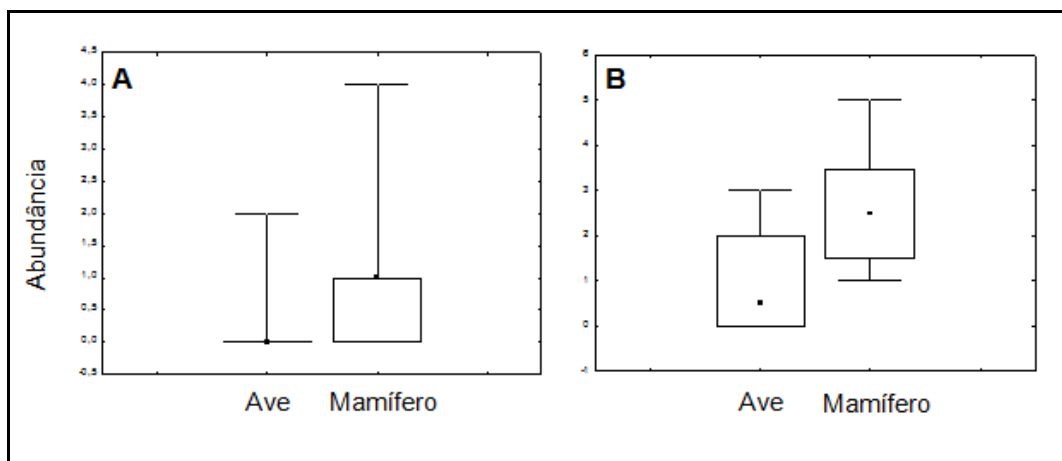


Figura 29. Abundância de *Runchomyia reversa* capturados com armadilhas CDC contendo como atrativos aves e mamíferos no: (A) Dossel e (B) Sub-bosque, entre março de 2009 a fevereiro de 2010, em área de Mata Atlântica, Florianópolis, SC. Os pontos indicam a mediana, as caixas indicam os percentis, e as barras verticais indicam os valores máximos e mínimos.

DISCUSSÃO

Das 27 espécies de Culicidae capturadas no presente estudo, os Sabethini foram o grupo predominante, sendo *Sa. purpureus*, *Ru. humboldti*, *Ru. reversa*, e *Wy. pilicauda* as espécies mais abundantes. Além dessas, *An. cruzii* também apresentou quantidades relevantes. Em capturas realizadas durante o período diurno em um fragmento de Mata Atlântica no estado de São Paulo, os Sabethini também foram o grupo mais abundante, sendo *Ru. reversa* a espécie com o maior número de indivíduos obtidos (Guimarães *et al.*, 2000b). Essa tribo de Culicidae é composta, essencialmente, por mosquitos de hábitos silvestres e de comportamento diurno, sendo dessa forma, sua ocorrência muito comum em capturas realizadas em fragmentos de florestas relativamente bem preservadas que foram levadas a efeito durante o período diurno (Forattini, 2002).

Na UCAD, diversos trabalhos de levantamento da fauna de Culicidae foram realizados, sendo que, em sua totalidade, foram registradas 36 espécies desse grupo (Reis *et al.*, 2010). Entre as espécies com maior abundância na área, *An. cruzii*, *Ru. reversa*, e *Sa. purpureus* se destacam pela abundância e frequência nas coletas (Paterno & Marcondes, 2004; Reis *et al.*, 2010). Os *Anopheles* (*Kerteszia*) e os Sabethini se desenvolvem em criadouros do tipo fitotelmata (Forattini, 2002). Na UCAD já foram registradas larvas de *Sa. purpureus* se desenvolvendo em ocos de árvores (Marcondes *et al.*, 2003), e larvas de *An. cruzii* e de *Wy. pilicauda* se desenvolvendo em bromélias rupícolas das espécies *Nidularium innocentii* e *Vriesea philippocoburgi* (Müller & Marcondes, 2006; 2007). Apesar das bromélias serem apontadas como

criadouros para as espécies de *Runchomyia* (Mocellin *et al.*, 2009), na UCAD não se tem registros de imaturos deste grupo se desenvolvendo nesse tipo de criadouro (Müller & Marcondes, 2006; 2007), sendo que, possivelmente, possam estar se desenvolvendo em bromélias nas copas das árvores ou em inserções foliares de Heliconiaceae.

Os índices de diversidade foram semelhantes nos quatro períodos estacionais, sendo um pouco maiores na primavera. Nesta estação, *Sa. purpureus*, *Ru. humboldti*, e *Wy. pilicauda* também apresentaram abundâncias médias significativamente superiores.

O fator sazonalidade é fortemente influenciado pela região em que as espécies habitam. *Haemagogus leucocelaenus* (Dyar & Shannon, 1924), por exemplo, apresentou maior abundância entre os meses de dezembro e janeiro (verão) em capturas realizadas no estado de Goiás, já em coletas realizadas no estado do Rio de Janeiro, essa espécie apresentou maior atividade no mês de junho (inverno) (Alencar *et al.*, 2008). Na região meridional do bioma Mata Atlântica, Silva & Lozovei (1998) registraram uma maior atividade de Culicidae adultos durante o outono, e Guimarães *et al.* (2000a), no mesmo bioma na região Sudeste, observaram maiores quantidades de Culicidae durante o verão. O mesmo padrão observado nesse último estudo foi registrado por Loetti *et al.* (2007) na Argentina. Entre as espécies de mosquitos que apresentam maior atividade na primavera pode-se citar *Culex declarator* Dyar & Knab, 1906 e *Cx. saltanensis* Dyar, 1928 (Lourenço-de-Oliveira & Silva, 1985).

As mudanças relacionadas à fauna de Culicidae ao longo das estações estão diretamente associadas às variações no regime de chuvas e na temperatura. A elevação do regime de chuvas em um determinado período

estacional viabiliza que potenciais criadouros se formem com maior facilidade e, posteriormente, se mantenham por mais tempo no ambiente, o que pode contribuir positivamente para o aumento populacional de diversas espécies de culicídeos (Forattini *et al.*, 1993; Müller & Marcondes, 2006). Além disso, maiores temperaturas contribuem para um desenvolvimento mais rápido dos imaturos (Calado & Silva, 2002), o que contribui diretamente para o aumento populacional deste grupo (Montes, 2005; Ueno *et al.*, 2007).

Segundo Shaman & Day (2007) e Lafferty (2009), alterações relacionadas ao aumento da precipitação pluviométrica e da temperatura em uma escala temporal mais ampla, como a registrada em mudanças sazonais, estão diretamente associadas ao aumento de casos humanos de infecções causadas por agentes transmitidos pela picada de culicídeos. Isso ocorre devido ao aumento populacional e possibilidade de expansão para novas áreas por parte das populações destes insetos.

Os Culicidae, de modo geral, não apresentaram variações significativas em sua abundância ao longo dos horários analisados na UCAD, sendo o mesmo padrão observado para *An. cruzii*, *Sa. purpureus*, e *Wy. pilicauda*. Já *Ru. humboldti* apresentou um primeiro pico de atividade entre às 8:00 e 9:00 horas, e um segundo, menos intenso do que o primeiro, entre às 10:00 e 11:00 horas. Também, *Ru. reversa* apresentou um pico de atividade entre às 10:00 e 11:00 horas.

A variação horária da atividade hematofágica dos Culicidae está associada a diversos fatores ambientais que se modificam ao longo do período diurno e noturno, como temperatura e luminosidade (Forattini *et al.*, 1986; Santos-Neto & Lozovei, 2008). Pequenas variações relacionadas à composição

do ambiente podem interferir nos picos de atividade de uma mesma espécie. Por exemplo, *An. maculipennis* Meigen, 1818, apresenta distintos picos de atividade em áreas de intra e peridomicílio (Aldemir *et al.*, 2010). *Anopheles cruzii*, que no presente estudo apresentou atividade similar ao longo dos horários amostrados, é considerada uma espécie essencialmente crepuscular, mas que pode ter atividade, mesmo que baixa, durante todo o período diurno (Ueno *et al.*, 2007; Bona & Navarro-Silva, 2008).

Espécies de *Haemagogus*, pelo seu envolvimento na transmissão do vírus da febre amarela, foram objeto de vários estudos envolvendo as variações de suas atividades hematofágicas durante o período diurno. *Hg. leucocelaenus* apresentou um pico unimodal de atividade entre às 13:00 e 14:00 horas em fragmentos de mata no estado do Rio Grande do Sul (Gomes *et al.*, 2010), e um pico bimodal de atividade entre às 11:00 e 12:00 horas e entre às 14:00 e 15:00 horas na região amazônica. Nessa última região, *Hg. janthinomys*, também com atividade bimodal, apresentou picos entre às 11:00 e 12:00 horas e entre às 15:00 e 16:00 horas (Pinto *et al.*, 2009).

Para os Sabethini são escassos os estudos que analisam a variação da atividade hematofágica ao longo do dia. Espécies como *Ru. reversa*, que no presente estudo apresentou um pico de atividade no final do período matutino (entre às 10:00 e 11:00 horas), foi coletada por Guimarães & Victório (1986), também em área de Mata Atlântica, e apresentou maior atividade no início do período matutino (entre às 6:00 e 8:00 horas). Além dessa espécie, esses autores observaram que *Tr. theobaldi* Lane & Cerqueira, 1942 e *Wy. confusa* Lutz, 1905 também apresentavam maior atividade no início do período matutino (entre às 6:00 e 8:00 horas), já espécies como *Wy. arthrostigma* (Lutz, 1905),

Wy. aporonomia Dyar & Knab, 1906, e *Wy. undulata* Ponte & Cerqueira, 1938 apresentaram maior atividade no final do período matutino (entre às 10:00 e 12:00 horas). Entre os *Sabethes*, *Sa. chloropterus* (Humboldt, 1819), *Sa. glaucodaemon* (Dyar & Shannon, 1925), *Sa. cyaneus* (Fabricius, 1805), e *Sa. belisarioi* Neiva, 1908 apresentaram atividade diurna com pico bimodal de atividade nos períodos entre às 11:00 e 12:00 horas, e entre às 15:00 e 16:00 horas na região amazônica (Pinto *et al.*, 2009).

As capturas no dossel e sub-bosque da mata utilizando aves e mamíferos roedores como atrativos em armadilhas CDC permitiram a obtenção de uma fauna de Culicidae com moderada riqueza (27 espécies). Em um fragmento de floresta ombrófila mista, Tissot & Navarro-Silva (2004) obtiveram, através do emprego de armadilhas CDC, instaladas também no dossel e no sub-bosque, contendo mamíferos e aves de pequeno porte como atrativos, apenas 13 espécies de Culicidae. Já Gomes *et al.* (1987), em fragmento de floresta ombrófila densa, obtiveram, com metodologia de capturas semelhante ao presente estudo, 59 espécies.

A composição da comunidade de culicídeos observada no dossel e no sub-bosque da floresta da UCAD foi muito semelhante no que se refere à diversidade e composição das espécies, independentemente do tipo de atrativo utilizado. Nesses estratos foi observado um padrão, onde poucas espécies foram muito dominantes (*e.g.* *Sa. purpureus*) e várias outras tiveram um número pequeno de indivíduos (*e.g.* *An. bellator*). Este padrão, segundo Nichols *et al.* (2007), é comum em ambientes alterados, inclusive em áreas em processos de regeneração, como o observado na UCAD.

Os Culicidae apresentaram atividade significativamente superior (abundâncias superiores) no sub-bosque da floresta, sendo que em relação às cinco espécies mais abundantes, *An. cruzii*, *Ru. humboldti*, e *Ru. reversa*, este padrão também foi observado. Já *Sa. purpureus* e *Wy. pilicauda*, não apresentaram preferência de atividade em nenhum dos estratos.

A estratificação vertical de ocorrência e atividade dos culicídeos pode ocorrer tanto para as formas adultas (e.g. Gillies & Wilkes, 1976), como para as formas imaturas (e.g. Navarro & Machado-Allison, 1995). Em relação à estratificação vertical dos adultos de mosquitos em áreas florestais de biomas brasileiros, a maioria dos estudos se concentra no bioma da Floresta Pluvial Amazônica, onde o dossel da mata pode atingir mais de 40m de altura (Julião *et al.*, 2010).

No bioma Mata Atlântica, onde o dossel pode atingir alturas próximas a 25m (Antonini & Nunes-Freitas, 2004), estudos envolvendo a estratificação vertical de culicídeos demonstraram que grupos como *Anopheles (Kerteszia)* apresentam atividade predominante no dossel da mata durante o período crepuscular (Ueno *et al.*, 2007). Assim, segundo Guimarães *et al.* (1985), é possível que, durante as horas mais quentes do dia devido a uma maior incidência de luz sobre o dossel, esse grupo de culicídeos modifique seu comportamento de forma que possa desenvolver suas atividades em regiões próximas ao solo, no sub-bosque da mata, onde são registrados índices de umidade relativa do ar mais elevados e menor luminosidade e temperatura (Guilherme *et al.*, 2004).

Entre os Sabethini, os *Sabethes* exercem suas atividades, preferencialmente, nos níveis elevados da copa das árvores. Isso pode ser

observado para *Sa. chloropterus* (e.g. Morales & Vidales, 1962), *Sa. cyaneus* (e.g. Trapido *et al.*, 1955), e *Sa. purpureus* (e.g. Davis, 1944). Espécies do gênero *Wyeomyia* apresentam padrões de atividades diversos, *Wy. arthrostigma*, *Wy. aporonoma*, *Wy. confusa*, e *Wy. mystes* Dyar, 1924 mostram-se mais ativas na região do sub-bosque da mata, e *Wy. lutzi* (Costa Lima, 1930), *Wy. knabi* Lane & Cerqueira, 1942, e *Wy. theobaldi* apresentam maior atividade no dossel da mata (Forattini, 1965; Guimarães *et al.*, 1985). Já entre as espécies do gênero *Runchomyia*, todos os registros apontam para uma atividade essencialmente acrodendrófila como é o caso de *Ru. frontosa*, *Ru. humboldti*, *Ru. magna* (Theobald, 1905), e *Ru. reversa* (Davis, 1944; Trapido & Galindo, 1957; Forattini, 1965).

Segundo Derraik *et al.* (2005), uma mesma espécie de Culicidae pode responder de forma diferenciada, em relação ao estrato de atividade, de acordo com o ambiente em que vive. Variações climáticas ao longo do dia e ao longo das estações, além do nível de preservação do hábitat florestal, podem influenciar diretamente na formação dos estratos verticais nas florestas (Julião *et al.*, 2010). Algumas espécies de *Haemagogus*, por exemplo, são ativas nas copas das árvores apenas nas horas mais quentes do dia, períodos estes em que seus hospedeiros preferenciais, os macacos, estão dormitando nos galhos das árvores (Chadee *et al.*, 1995).

No presente estudo, os Culicidae, de modo geral, não apresentaram preferências por algum dos atrativos utilizados nas armadilhas CDC, sendo o mesmo padrão observado para *An. cruzii*, *Ru. humboldti*, e *Wy. pilicauda*. No entanto, para *Sa. purpureus* e para *Ru. reversa* foram observadas preferências

significativas por um dos atrativos. A primeira espécie foi mais atraída pela ave e a segunda pelo mamífero.

Algumas espécies de culicídeos são consideradas ecléticas no que se refere à preferência por hospedeiros para a realização do repasto sanguíneo, já outras, mostram-se menos generalistas. Alencar *et al.* (2005), por exemplo, demonstraram que espécies de mosquitos da região do Pantanal Mato-Grossense apresentam diferentes níveis de ecletismo em relação ao tipo de animal no qual ocorrem o repasto sanguíneo. Nesse estudo, *Ae. scapularis* mostrou-se pouco eclética e *Mansonia humeralis* Dyar & Knab, 1916 grande ecletismo, sendo encontrado exemplares desta espécie ingurgitados com sangue de aves, roedores, lagartos, capivaras, bovinos e humanos.

Entre as espécies com maior abundância no presente estudo, *An. cruzii* é classificada como uma espécie eclética que pode ser atraída e se alimentar a partir de sangue de humanos (Bona & Navarro-Silva, 2008), aves (Guimarães *et al.*, 1987), e roedores (Gomes *et al.*, 1987). *Runchomyia humboldti*, *Ru. reversa*, e *Wy. pilicauda* apresentam comportamento alimentar antropofílico (Guimarães *et al.*, 1989; Paterno & Marcondes, 2004; Alencar *et al.*, 2011). Espécies do gênero *Sabethes* são conhecidas por se alimentarem de sangue de macacos e humanos (Marassá *et al.*, 2009), sendo que *Sa. purpureus* foi registrada em capturas que se utilizaram de isca humana como atrativo (Silva & Lozovei, 1998; Guimarães *et al.*, 2003).

Para o estado de Santa Catarina são registradas diversas espécies de roedores (Rodentia), sendo que em florestas em estágio secundário de regeneração é possível citar as seguintes: *Akodon montensis* Thomas, 1913, *Nectomys squamipes* (Brants, 1827), *Oligoryzomys nigripes* (Olfers, 1818),

Oryzomys angouya (Fischer, 1814), *Oryzomys russatus* (Wagner, 1848), e *Phyllomys medius* (Thomas, 1909) (Graipel *et al.*, 2006). Já para as aves, se pode citar: *Aramides cajanea* (Statius Muller, 1776), *Aramides saracura* (Spix, 1825), *Zenaida auriculata* (Des Murs, 1847), *Leptotila verreauxi* (Bonaparte, 1855), *Piaya cayana* (Linnaeus, 1766), e *Synallaxis spixii* Sclater, 1856 (Azevedo, 1995).

CONCLUSÕES

1. Foram registradas 27 espécies de Culicidae na Unidade de Conservação Ambiental Desterro, sendo que os Sabethini foram predominantes.
2. A primavera foi o período estacional em que foram registradas a maior abundância, riqueza e diversidade de Culicidae, sendo que nessa estação espécies como *Anopheles cruzii*, *Sabethes purpureus*, *Runchomyia humboldti*, e *Wyeomyia pilicauda* apresentaram os seus picos de atividade.
3. Os Culicidae apresentaram uma atividade constante ao longo do período diurno estudado, exceto *Runchomyia humboldti*, que se mostrou mais ativa no período matutino, especialmente no período inicial, e *Runchomyia reversa* que apresentou maior atividade no final do período matutino.
4. Os culicídeos apresentaram maior atividade na região do sub-bosque da floresta, sendo que *Anopheles cruzii*, *Runchomyia humboldti*, e *Runchomyia reversa* também demonstraram esse padrão de estratificação vertical de atividade.
5. De forma geral, os Culicidae foram atraídos de forma semelhante aos dois tipos de atrativos utilizados, no entanto, espécies como *Sabethes purpureus* apresentaram uma maior atração por aves, e *Runchomyia reversa* por mamíferos roedores.

REFERÊNCIAS

- Aldemir, A.; Bedir, H.; Demirci, B. & Alten, B. 2010. Biting Activity of Mosquito Species (Diptera: Culicidae) in the Turkey-Armenia Border Area, Ararat Valley, Turkey. **Journal of Medical Entomology** **47**: 22-27.
- Alencar, J.; Lorosa, E. S.; Silva, J. S.; Lopes, C. M. & Guimarães, A. E. 2005. Observações Sobre Padrões Alimentares de Mosquitos (Diptera: Culicidae) no Pantanal Mato-Grossense. **Neotropical Entomology** **34**: 681-687.
- Alencar, J.; Dégallier, N.; Hannart, A.; Silva, J. S.; Pacheco, J. B. & Guimarães, A. E. 2008. Circadian and seasonal preferences for hematophagy among *Haemagogus capricornii*, *Hg. janthinomys*, and *Hg. leucocelaenus* (Diptera: Culicidae) in different regions of Brazil. **Journal of Vector Ecology** **33**: 389-392.
- Alencar, J.; Ferreira, Z. M.; Lopes, C. M.; Serra-Freire, N. M.; Mello, R. P.; Silva, J. S. & Guimarães, A. E. 2011. Biodiversity and Times of Activity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in the Biome of the Atlantic Forest in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Medical Entomology** **48**: 223-231.
- Alkan, S. S. & Aldemir, A. 2010. Seasonal Dynamics of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Animal Barns and Houses in Aras Valley, Turkey. **Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi** **16**: 43-48.
- Almeida, L. M.; Ribeiro-Costa, C. S. & Marinoni, L. 2003. **Manual de Coleta, Conservação, Montagem e Identificação de Insetos**. Holos Editora, Ribeirão Preto, 78p.

- Anderson, J. F.; Main, A. J.; Ferrandino, F. J. & Andreadis, T. G. 2007. Nocturnal Activity of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in a West Nile Virus Focus in Connecticut. **Journal of Medical Entomology** **44**: 1102-1108.
- Antonini, R. D. & Nunes-Freitas, A. F. 2004. Estrutura populacional e distribuição espacial de *Miconia prasina* D.C. (Melastomataceae) em duas áreas de Floresta Atlântica na Ilha Grande, RJ, Sudeste do Brasil. **Acta Botânica Brasileira** **18**: 671-676.
- Azevedo, T. R. 1995. Estudo da avifauna do campus da Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis). **Biotemas** **8**: 7-35.
- Bona, A. C. D. & Navarro-Silva, M. A. 2008. Diversidade de Culicidae durante os períodos crepusculares em bioma de Floresta Atlântica e paridade de *Anopheles cruzii* (Diptera: Culicidae). **Revista Brasileira de Zoologia** **25**: 40-48.
- Bonnet, A. & Queiroz, M. H. 2006. Estratificação vertical de bromélias epifíticas em diferentes estádios sucessionais da Floresta Ombrófila Densa, Ilha de Santa Catarina, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **29**: 217-228.
- Calado, D. C. & Silva, M. A. N. 2002. Avaliação da influência da temperatura sobre o desenvolvimento de *Aedes albopictus*. **Revista de Saúde Pública** **36**: 173-179.
- Chadee, D. D. 1990. Seasonal Abundance and Diel Landing Periodicity of *Sabethes chloropterus* (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies. **Journal of Medical Entomology** **27**: 1041-1044.
- Chadee, D. D.; Ganesh, R.; Hingwan, J. O. & Tikasingh, E. S. 1995. Seasonal abundance, biting cycle and parity of the mosquito *Haemagogus*

- leucocelaenus* in Trinidad, West Indies. **Medical and Veterinary Entomology** **9**: 372-376.
- Collins, L. E. & Blackwell, A. 2000. Colour cues for oviposition behavior in *Toxorhynchites moctezuma* and *Toxorhynchites amboinensis* mosquitoes. **Journal of Vector Entomology** **25**: 127-135.
- Consoli, R. A. G. B. & Lourenço-De-Oliveira, R. 1994. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Editora Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 228p.
- Correa, R. R. & Ramalho, G. R. 1956. Revisão de *Phoniomyia* Theobald, 1903 (Diptera, Culicidae, Sabethini). **Folia Clínicaet Biológica** **25**: 1-176.
- Davis, D. E. 1944. A comparison of the mosquitoes captured with an avian bait at different vegetational levels. **Revista de Entomologia, Rio de Janeiro** **15**: 209-215.
- Derraik, J. G. B.; Snell, A. E. & Slaney, D. 2005. Vertical distribution of adult mosquitoes in native forest in Auckland, New Zealand. **Journal of Vector Ecology** **30**: 334-336.
- Downs, W. G. 1985. The Known and the Unknown in Yellow Fever Ecology and Epidemiology. **Ecology of Disease** **1**: 103-110.
- Erwin, T. L. 1982. Tropical Forest: Their richness in Coleoptera and other arthropods species. **The Coleopterists Bulletin** **36**: 74-75.
- Forattini, O. P. 1965. **Entomologia Médica**, vol. 3, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 416p.
- Forattini, O. P.; Gomes, A. C.; Natal, D. & Santos, J. L. F. 1986. Observações sobre atividade de mosquitos Culicidae em matas primitivas da planície e

- perfis epidemiológicos de vários ambientes no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública** 20: 178-203.
- Forattini, O. P.; Gomes, A. C.; Natal, D.; Kakitani, I. & Marucci, D. 1987. Preferências alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública** 21: 171-181.
- Forattini, O. P.; Kakitani, I.; Massad, E. & Marucci, D. 1993. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 2 – Immature stages research at a rice irrigation system location in South-Eastern Brazil. **Revista de Saúde Pública** 27: 227-236.
- Forattini, O. P.; Kakitani, I.; Massad, E. & Marucci, D. 1996. Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 11 – Biting activity and blood-seeking parity of *Anopheles (Kerteszia)* in South-Eastern Brazil. **Revista de Saúde Pública** 30: 107-114.
- Forattini, O. P. 2002. **Culicidologia Médica**, vol. 2, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 860p.
- Gahan, J. B.; Wilson, H. G. & Weidhaas, D. E. 1969. Behavior of *Psorophora* spp. and *Anopheles quadrimaculatus* inside and around untreated farm buildings in a rice growing area. **Mosquito News** 29: 574-582.
- Galindo, P. & Trapido, H. 1955. Forest Canopy Mosquitoes Associated with the Appearance of Sylvan Yellow Fever in Costa Rica, 1951. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 4: 543-549.
- Gillies, M. T. & Wilkes, T. J. 1976. The vertical distribution of some West African mosquitoes (Diptera, Culicidae) over open farmland in a freshwater area of the Gambia. **Bulletin Entomological Research** 66: 5-15.

- Gomes, A. C.; Forattini, O. P. & Natal, D. 1987. Composição e Atividade de Mosquitos Culicidae. Emprego de Armadilha CDC no Vale do Ribeira, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública** **21**: 363-370.
- Gomes, A. C.; Torres, M. A. N.; Ferri, L.; Costa, F. R. & Silva, A. M. 2007. Encontro de *Haemagogus* (*Conopostegus*) *leucocelaenus* (Diptera: Culicidae), no município de Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **40**: 487-488.
- Gomes, A. C.; Torres, M. A. N.; Paula, M. B.; Fernandes, A.; Marassá, A. M.; Consales, C. A. & Fonseca, D. F. 2010. Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera: Culicidae) em áreas epizoóticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde** **19**: 101-113.
- Graipel, M. E.; Cherem, J. J.; Monteiro-Filho, E. L. A. & Glock, L. 2006. Dinâmica Populacional de Marsupiais e Roedores no Parque Municipal Lagoa do Peri, Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil. **Mastozoología Neotropical** **13**: 31-49.
- Guilherme, F. A. G.; Morellato, L. P. C. & Assis, M. A. 2004. Horizontal and vertical tree community structure in a lowland Atlantic Rain Forest, Southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** **27**: 725-737.
- Guimarães, A. E.; Arlé, M. & Machado, R. N. M. 1985. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. II. Distribuição Vertical. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **80**: 171-185.
- Guimarães, A. E. & Victório, V. M. N. 1986. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. III. Preferência Horária para Hematofagia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **81**: 93-103.

- Guimarães, A. E.; Arlé, M. & Machado, R. N. M. 1987. Mosquitos no Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. IV. Preferência Alimentar. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **82**: 277-285.
- Guimarães, A. E.; Motta, M. A.; Arlé, M.; Machado, R. N. M. & Gonçalves, L. D. 1989. Bionomia de Mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas de Mata Atlântica no Município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. I. Frequência Intra, Peri, e Extradomiciliar. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **84**: 243-254.
- Guimarães, A. E.; Mello, R. P.; Lopes, C. M. & Gentile, C. 2000a. Ecology of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Areas of Serra do Mar State Park, State of São Paulo, Brazil. I – Montly Frequency and Climatic Factors. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **95**: 1-16.
- Guimarães, A. E.; Gentile, C.; Lopes, C. M.; Sant’Ana, A. & Jovita, A. M. 2000b. Ecologia de mosquitos (Diptera: Culicidae) em áreas do Parque Nacional da Serra da Bocaina, Brasil. I – Distribuição por habitat. **Revista de Saúde Pública** **34**: 243-250.
- Guimarães, A. E.; Lopes, C. M.; Mello, R. P. & Alencar, J. 2003. Ecologia de mosquitos (Diptera, Culicidae) em áreas do Parque Nacional do Iguaçu, Brasil. 1 – Distribuição por hábitat. **Cadernos de Saúde Pública** **19**: 1107-1116.
- Hammer, O; Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. 2003. PAST – **Palaeontological Statistics**, ver, 1.8. Disponível em: <<http://www.folk.uio.no/ohammer/past>>. Acesso em: 11/10/2011.
- Jansen, C. C.; Zborowski, P.; Ritchie, S. A. & Hurk, A. F. 2009. Efficacy of bird-baited traps placed at different heights for collecting ornithophilic

- mosquitoes in eastern Queensland, Australia. **Australian Journal of Entomology** **48**: 53-59.
- Jordan, S. & Hubbard, S. F. 1991. Influence of Humidity and Temperature on the Diel Periodicity of Oviposition of *Toxorhynchites moctezuma* (Diptera: Culicidae) in the Field. **Journal of Medical Entomology** **28**: 241-245.
- Julião, G. R.; Abad-Franch, F.; Lourenço-De-Oliveira, R. & Luz, S. L. B. 2010. Measuring Mosquito Diversity Patterns in an Amazonian Terra Firme Rain Forest. **Journal of Medical Entomology** **47**: 121-128.
- Klein, R. M. 1980. Ecologia da flora e vegetação do Vale do Itajaí. **Sellowia** **32**: 165-389.
- Knols, B. G. & Takken, W. 1997. Odour-mediated, host-seeking behavior of *Anopheles* mosquitoes: a new approach. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology** **91**: 117-118.
- Lafferty, K. D. 2009. The ecology of climate change and infectious diseases. **Ecology** **90**: 888-900.
- Lane, J. 1953. **Neotropical Culicidae**, vol. 1. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 548p.
- Loetti, V.; Burroni, N. & Vezzani, D. 2007. Seasonal and daily activity patterns of human-biting mosquitoes in a wetland system in Argentina. **Journal of Vector Ecology** **32**: 358-365.
- Lopes, J.; Oliveira, V. D. R. B. & Oliveira, F. J. A. 1995. Predominância de *Mansonia titillans* (Walker, 1848) (Diptera: Culicidae) na área urbana do município de Londrina-PR, Sul do Brasil. **Semina: Ciências Biológicas e de Saúde** **16**: 254-259.

- Lourenço-De-Oliveira, R. & Silva, T. F. 1985. Alguns aspectos da ecologia dos mosquitos (Diptera: Culicidae) de uma área de planície (Granjas Calábria), em Jacarepaguá, Rio de Janeiro. III. Preferência horária das fêmeas para o hematofagismo. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **80**: 195-201.
- Lourenço-De-Oliveira, R. & Luz, S. L. B. 1996. Simian Malaria at Two Sites in the Brazilian Amazon – II. Vertical Distribution and Frequency of Anopheline Species Inside and Outside the Forest. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **97**: 687-694.
- Marassá, A. M.; Paula, M. B.; Gomes, A. C. & Consales, C. A. 2009. Biotin-Avidin Sandwich ELISA With Specific Human Isotypes IgG1 and IgG4 For Culicidae Mosquito Blood Meal Identification From An Epizootic Yellow Fever Area in Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases** **15**: 696- 706.
- Marcondes, C. B.; Fernandes, A.; Paterno, U.; Müller, G. A.; Pinho, L. C. & Struffaldi, D. V. 2003. New records of mosquitoes from the southern Brazilian States of Santa Catarina and Rio Grande do Sul, with 18 species new for the States (Diptera: Culicidae). **Zootaxa** **347**: 1-6.
- Martins, C. F. & Souza, A. K. P. 2005. Estratificação Vertical de abelhas Euglossina (Hymenoptera, Apidae) em uma área de Mata Atlântica, Paraíba, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** **22**: 913-918.
- Mocellin, M. G.; Simões, T. C.; Nascimento, T. F. S.; Teixeira, M. L. F.; Lounibos, F. & Oliveira, R. L. 2009. Bromeliad-inhabiting mosquitoes in an urban botanical garden of dengue endemic Rio de Janeiro – Are bromeliads productive habitats for the invasive vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*?. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **104**: 1171-1176.

- Molaei, G.; Andreadis, T. G.; Armstrong, P. M.; Bueno Jr, R.; Dennett, J. A.; Real, S. V.; Sargent, C.; Bala, A.; Randle, Y.; Guzman, H.; Rosa, A. T.; Wuithiranyagool, T. & Tesh, R. B. 2007. Host Feeding Pattern of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and Its Role in Transmission of West Nile Virus in Harris Coutry, Texas. **American Journal of Trpical Medicine and Hygiene** **77**: 73-81.
- Montes, J. 2005. Fauna de Culicidae da Serra da Cantareira, São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública** **39**: 578-584.
- Morales, A. & Vidales, H. 1962. Distribución de mosquitos selvaticos en San Vicente de Chucuri, Colombia. **Lozania (Acta Zoologica Colombiana)** **13**: 1-15.
- Müller, G. A.; Bona, A. C. D.; Marcondes, C. B. & Navarro-Silva, M. A. Crepuscular activity of culicids (Diptera: Culicidae) in the peridomicile and in the remaining riparian forest in Tibagi river, State of Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, no prelo.
- Müller, G. A. & Marcondes, C. B. 2006. Bromeliad-associated mosquitoes from Atlantic Forest in Santa Catarina Island, southern Brazil (Diptera, Culicidae), with new records for the State of Santa Catarina. **Iheringia, Série Zoologia** **96**: 315-319.
- Müller, G. A. & Marcondes, C. B. 2007. Immature mosquitoes (Diptera: Culicidae) on the bromeliad *Nidularium innocentii* in ombrophilous dense forest of Santa Catarina Island, Florianópolis, Santa Catarina State, southern Brazil. **Biotemas** **20**: 27-31.
- Navarro, J. C. & Machado-Allison, C. 1995. Aspectos Ecologicos de *Sabethes chloropterus* (Humboldt) (Diptera: Culicidae) em um Bosque Humedo Del

- Edo. Miranda, Venezuela. **Boletín Entomological Venezuelano** **10**: 91-104.
- Nelson, M. J.; Self, L. S.; Pant, C. P. & Usman, S. 1978. Diurnal Periodicity of Attraction to Human Bait of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Jakarta, Indonesia. **Journal of Medical Entomology** **14**: 504-510.
- Nichols, E.; Larsen, T.; Spector, S.; Davis, A. L.; Escobar, F.; Favila, M. & Vulinec, K. 2007. Global dung beetle response to tropical forest modification and fragmentation: A quantitative literature review and meta-analysis. **Biological Conservation** **137**: 1-19.
- Paterno, U. & Marcondes, C. B. 2004. Mosquitos antropofílicos de atividade matutina em Mata Atlântica, Florianópolis, SC. **Revista de Saúde Pública** **38**: 133-135.
- Pates, H. V.; Takken, W.; Stuke, K. & Curtis, C. F. 2001. Differential behavior of *Anopheles gambiae* sensu stricto (Diptera: Culicidae) to human and cow odours in the laboratory. **Bulletin of Entomological Research** **91**: 289-296.
- Pfeffer, M. & Dobler, G. 2010. Emergency of zoonotic arboviroses by animal trade and migration. **Parasites & Vectors** **3**: 35.
- Pinto, C. S.; Confalonieri, U. E. C. & Mascarenhas, B. M. 2009. Ecology of *Haemagogus* sp. and *Sabethes* sp. (Diptera: Culicidae) in relation to the microclimates of the Caxiuanã National Forest, Pará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **104**: 592-598.
- Ramírez, J. E.; Yanoviak, S. P.; Lounibos, L. P. & Weaver, S. C. 2007. Distribución Vertical de *Haemagogus janthinomys* (Dyar) (Diptera:

- Culicidae) em Bosques de La Amazonía Peruana. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica** **24**: 40-45.
- Reinert, J. F. 1975. Mosquito generic and subgeneric abbreviations (Diptera: Culicidae). **Mosquito Systematics** **7**: 105-110.
- Reis, M.; Müller, G. A. & Marcondes, C. B. 2010. Inventário de mosquitos (Diptera: Culicidae) da Unidade de Conservação Ambiental Desterro, Ilha de Santa Catarina, Sul do Brasil. **Biota Neotropica** **10**: <http://www.biotaneotropica.org.br/v10n3/en/abstract?inventory+bn01610032010>.
- Santos-Neto, L. G. & Lozovei, A. L. 2008. Aspectos ecológicos de *Anopheles cruzii* e *Culex ribeirensis* (Diptera, Culicidae) da Mata Atlântica de Morretes, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia** **52**: 105-111.
- Sant'Ana, A. L. & Lozovei, A. L. 2001. Influência do ciclo lunar na captura de *Aedes scapularis* (Diptera, Culicidae) na Mata Atlântica do Paraná. **Iheringia, Série Zoologia** **90**: 175-182.
- Serpa, L. L. N.; Costa, K. V. R. M.; Voltolini, J. C. & Kakitani, I. 2006. Variação sazonal de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* no município de Potim, São Paulo. **Revista de Saúde Pública** **40**: 1-5.
- Shaman, J. & Day, J. F. 2007. Reproductive Phase Locking of Mosquito Populations in Response to Rainfall Frequency. **Plos One** **3**: 331.
- Shriram, A. N.; Ramaiah, K. D.; Krishnamoorthy, K. & Sehgal, S. C. 2005. Diurnal Pattern of Human-Biting Activity and Transmission of Subperiodic *Wuchereria bancrofti* (Filariidea: Dipetalonematidae) by *Ochlerotatus niveus* (Diptera: Culicidae) on the Andaman and Nicobar Islands of India. **The Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **72**: 273-277.

- Silva, M. A. N. & Lozovei, A. L. 1998. Mosquitos (Diptera: Culicidae) capturados com isca humana em área preservada de Curitiba, Paraná. **Revista Brasileira de Zoologia** **15**: 965-976.
- Souza, S. S.; Silva, I. G. & Silva, H. H. G. 2010. Associação entre incidência de dengue, pluviosidade e densidade larvária de *Aedes aegypti*, no Estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **43**: 152-155.
- Stav, G.; Blausterin, L. & Margalith, J. 1999. Experimental evidence for predation risk sensitive oviposition by a mosquito, *Culiseta longiareolata*. **Ecological Entomology** **24**: 202-207.
- Thompson, G. G.; Withers, P. C.; Pianka, E. R. & Thompson, S. A. 2003. Assessing biodiversity with species accumulation curves; inventories of small reptiles by pittrapping in Western Australia. **Austral Ecology** **28**: 361-383.
- Trapido, H.; Galindo, P. & Carpenter, S. J. 1955. A survey of Forest Mosquitoes in Relation to Sylvan Yellow Fever in the Panama Isthmian Area. **American Journal of Trpical Medicine and Hygiene** **4**: 525-542.
- Trapido, H. & Galindo, P. 1957. Mosquitos associated with sylvan yellow fever near Almirante, Panama. **American Journal of Trpical Medicine and Hygiene** **6**: 114-144.
- Tissot, A. C. & Navarro-Silva, M. A. 2004. Preferência por hospedeiro e estratificação de Culicidae (Diptera) em área de remanescente florestal do parque Regional do Iguaçu, Curitiba, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** **21**: 877-886.

- Ueno, H. M.; Forattini, O. P. & Kakitani, I. 2007. Distribuição vertical e sazonal de *Anopheles (Kerteszia)* em Ilha Comprida, SP. **Revista de Saúde Pública** **41**: 269-275.
- Vitec, C. J.; Richards, S. L.; Mores, C. N.; Day, J. F. & Lord, C. C. 2008. Arbovirus Transmission by *Culex nigripalpus* in Florida, 2005. **Journal of Medical Entomology** **45**: 483-493.
- Walker, E. D. & Edman, J. D. The Influence of Host Defensive Behavior on Mosquito (Diptera: Culicidae) Biting Persistence. **Journal of Medical Entomology** **22**: 370-372.
- Zsemlye, J. L.; Hancock, R. G. & Foster, W. A. 2005. Analysis of a complex vertical copulatory-courtship display in the yellow fever vector *Sabethes chloropterus*. **Medical and Veterinary Entomology** **19**: 276-285.
- Zwiebel, L. J. & Takken, W. 2004. Olfactory regulation of mosquito-host interactions. **Insect Biochemistry and Molecular Biology** **34**: 645-652.

CAPÍTULO II

**Relações genéticas e preferência por locais de oviposição de populações
de *Sabethes aurescens* Lutz, 1905 (Diptera: Culicidae)**

RESUMO

Foi estudado o perfil genético, baseado no fragmento da subunidade I do gene mitocondrial citocromo c oxidase (COI), de populações de *Sabethes aurescens* provenientes de fragmentos florestais da região metropolitana da Florianópolis-SC. Também foi estudado o comportamento de oviposição desta espécie em internódios de bambus, e foram analisados quais compostos químicos apresentam potencialidade em mediar este comportamento. Em cinco populações desta espécie foram observados 16 haplótipos. Áreas de mata legalmente protegidas e, conseqüentemente, mais preservadas, como o Parque Municipal da Lagoa do Peri (LP) e a Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC), apresentaram populações de *Sa. aurescens* com maiores diversidades genéticas. Estas populações não se encontraram em expansão, e o fluxo gênico entre elas não estava correlacionado com a distância geográfica. As fêmeas de *Sa. aurescens* preferiram ovipositar em internódios de bambus que apresentem baixas densidades de larvas coespecíficas, e evitaram ovipositar em locais que apresentavam larvas predadoras de *Toxorhynchites* spp. Para esta espécie, o composto químico dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil) metano) apresentou um potencial como atrativo, e o 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno) apresentou um potencial como repelente para as oviposições.

Palavras-chave: DNA mitocondrial, fitotelmata, *Sabethes aurescens*, oviposição.

ABSTRACT

The genetic profile, based on the fragment of the subunit I of the mitochondrial gene cytochrome c oxidase (COI), populations of *Sabethes aurescens* from forest fragments in the metropolitan region of Florianópolis-SC was studied. We also studied the oviposition behavior of this species in bamboo internodes, and analyzed chemical compounds which have the potential to mediate this behavior. In five populations of this species were observed 16 haplotypes. Legally protected forest areas and, consequently, more preserved, like the Parque Municipal da Lagoa do Peri (LP) and Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC) had *Sa. aurescens* populations with higher genetic diversity. These populations are not expanding, and the gene flow between them is not correlated with geographic distance. The *Sabethes aurescens* females prefers to lay eggs in bamboo internodes with low density of conspecific larvae, and avoid lay in places that have predatory larvae of *Toxorhynchites* spp. For this specie, the chemical, dimethyl disulfide ((dissulfanil methyl) methane) showed potential as an attractive, and 1,3,6-octatrieno ((3-E, 6-E)- 1,3,6- octatrieno) had potential as a repellent for oviposition.

Key words: Mitochondrial DNA, phytotelma, *Sabethes aurescens*, oviposition.

INTRODUÇÃO

Os *Sabethes* estão divididos em cinco subgêneros: *Sabethes*, *Sabethoides*, *Sabethinus*, *Davismyia* e *Peytonulus* (Forattini, 1965; Harbach, 1991). Os indivíduos adultos desse grupo apresentam a probóscida curta e menor que o fêmur anterior. Ambos os sexos têm palpos maxilares curtos, sendo que nos machos as antenas são mais plumosas do que nas fêmeas, e a extremidade distal do abdome daqueles é dilatada, sendo possível observar a genitália externa mais desenvolvida. Na região torácica os lobos antepronotais são desenvolvidos, quase se tocando na linha média. O escudo é revestido de escamas com reflexos metálicos de diversas tonalidades. A região pleural possui intenso revestimento de escamas, sendo que as cerdas pré-alares, exceto em *Davismyia*, são ausentes. Nas pernas de algumas espécies, as tíbias e tarsos podem apresentar tufo de escamas semelhantes a pás de remos. As larvas apresentam maxilas bem desenvolvidas e o pécten do VIII segmento é de feição variável, assim como o sifão respiratório, o qual é inexistente ou então substituído por uma franja cerdosa conhecida por falso pécten (Forattini, 2002).

Este gênero apresenta 40 espécies descritas, sendo sua distribuição restrita a região Neotropical (Harbach, 1994; Harbach & Howard, 2002). As formas imaturas se desenvolvem em criadouros naturais do tipo fitotelmata, como internódios de bambus, bromélias, e ocos de árvores. As larvas de algumas espécies podem apresentar um comportamento predatório facultativo e também canibalístico (Costa Lima, 1931; Navarro & Machado-Alisson, 1995).

As formas adultas de *Sabethes* têm atividade diurna e são encontradas em ambientes florestais, preferencialmente na altura das copas das árvores de matas bem preservadas nas horas mais quentes do dia (Dégallier *et al.*, 1998). As fêmeas se alimentam de sangue de humanos e macacos e são classificadas como mosquitos tímidos, pois apresentam reduzida agressividade durante a aproximação e a realização do repasto sanguíneo (Forattini, 2002; Marassá *et al.*, 2009). Os machos de algumas espécies desenvolveram um comportamento de cortejo, através de um tipo de dança baseada no movimento rítmico das pernas, antes da realização da cópula para atrair as fêmeas (Zsemlye *et al.*, 2005). Algumas espécies, como *Sa. cyaneus* (Fabricius, 1805), *Sa. chloropterus* (Humboldt, 1819), e *Sa. belisarioi* Neiva, 1908, são apontadas como vetoras de alguns importantes arbovírus, como os da febre amarela, da encefalite de São Luís e o Ilhéus (Chadee, 1990; Hayes *et al.*, 1991; Gomes *et al.*, 2010).

Entre as espécies desse grupo, *Sa. (Peytonulus) aurescens* Lutz, 1905 apresenta distribuição conhecida entre o estado de Minas Gerais e o Rio Grande do Sul (Maciel, 1962; Marcondes *et al.*, 2003; Cardoso *et al.*, 2005). Os adultos possuem hábito alimentar antropofílico e são encontrados em formações florestais de floresta ombrófila densa, mista, e floresta semidecidual (Zeque & Lopes, 2001; Paterno & Marcondes, 2004; Marcondes *et al.*, 2006).

As fêmeas dessa espécie ovipositam através de aberturas existentes em internódios de bambus. Essas aberturas são naturalmente realizadas através da ação de *Eucalyptra babara* Schaus, 1894 e *Eucalyptra fumida* Schaus, 1894 (Lepidoptera, Noctuidae), além de *Desmosomus longipes* Perty, 1830 (Coleoptera: Curculionidae, Molytinae) (Lozovei, 1998; Zequi & Lopes, 2001).

Ao localizar os orifícios nos internódios de bambus, as fêmeas ovipositam, em média, três ovos por criadouro (Müller *et al.*, 2009).

Os imaturos de *Sa. aurescens* apresentam desenvolvimento lento, em torno de 74 dias, sendo que o quarto estágio larval é considerado o período com maior tempo de desenvolvimento, com 35 dias em média. As larvas são predadoras facultativas, inclusive de larvas coespecíficas, e os machos chegam à fase adulta antes das fêmeas (Müller *et al.*, 2009). Forattini (2002) considera que essa espécie, assim como outras que se desenvolvem em internódios de bambus perfurados, podem apresentar um período de desenvolvimento larval prolongado devido ao elevado tempo de manutenção de seus criadouros no ambiente, pois estes apresentam baixas taxas de evaporação.

Em áreas do bioma Mata Atlântica, além de imaturos de *Sa. aurescens*, podem ser encontrados se desenvolvendo nos internódios de bambus dípteros sirfídeos, forídeos, e outras espécies de culicídeos como *Sa. melanonymphe* (Dyar, 1924), *Toxorhynchites* spp., *Trichoprosopon pallidiventer* (Lutz, 1905), e *Wyeomyia limai* Lane & Cerqueira, 1942 (Lozovei, 2001; Müller, 2008). Dessa forma, os internódios de bambus formam microhabitats com uma variedade de espécies de culicídeos e outros insetos que podem manter relações tróficas harmônicas e/ou desarmônicas (Sunahara *et al.*, 2002). Por exemplo, larvas de *Toxorhynchites* spp. são predadoras e, conseqüentemente, podem se alimentar de outras larvas de mosquitos presentes no seu criadouro, inclusive nos formados a partir de internódios de bambus (Steffan & Evenhuis, 1981; Zequi & Lopes, 2001).

A falta de mobilidade dos imaturos de Culicidae para migrar de um criadouro para outro em busca de melhores condições de sobrevivência, confere ao comportamento de escolha dos locais para oviposição das fêmeas desse grupo uma grande importância para o seu sucesso reprodutivo (Kiflawi *et al.*, 2003). Essa decisão ocorre através da detecção por parte das fêmeas grávidas de sinais físicos e químicos provenientes dos potenciais criadouros que indicam a sua qualidade (Collins & Blackwell, 2000; Blaustein *et al.*, 2004).

Os sinais químicos utilizados para a comunicação entre organismos são denominados de semioquímicos, sendo estes, subdivididos em dois grupos, os feromônios e os aleloquímicos. O primeiro grupo caracteriza-se por permitir a comunicação entre organismos coespecíficos, podendo ser de agregação, sexual, de alarme, e de trilha. O segundo grupo caracteriza-se pela comunicação de organismos de diferentes espécies, podendo ser denominados de alomônios, cairomônios, sinomônios, e apneumônios. Os alomônios são sinais emitidos que favorecem o emissor, os cairomônios são sinais emitidos por um indivíduo cujo organismo receptor é favorecido, os sinomônios são substâncias liberadas que favorecem tanto os indivíduos emissores quanto os receptores, e os apneumônios são substâncias liberadas por um hospedeiro não vivo que atraem parasitóides (Freitas *et al.*, 2011).

Assim, através da detecção dos semioquímicos, as fêmeas de Culicidae conseguem perceber no criadouro a existência de possíveis competidores intra e interespecíficos, a presença de predadores, e a viabilidade de recursos alimentares e espaciais para o desenvolvimento da prole (Kaufman *et al.*, 1999; Agnew *et al.*, 2000; Arav & Blaustein, 2006). Müller (2008), por exemplo, observou que fêmeas de *Sa. aurescens* evitam ovipositar em internódios

localizados na base dos bambus devido, provavelmente, ao reduzido volume. Já Navarro & Machado-Alisson (1995), observaram que as fêmeas de *Sa. chloropterus* evitam ovipositar em ocos de árvores habitados por larvas predadoras de *Tx. theobaldi* (Dyar & Knab, 1906).

Algumas espécies, devido a sua elevada relevância epidemiológica, tiveram o seu comportamento de oviposição e os sinais químicos que o mediam bem estudados e descritos, como o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). Essa espécie oviposita, preferencialmente, em recipientes artificiais com água limpa, e, em alguns casos, apresenta o comportamento de ovipositar aos saltos, para distribuir seus ovos em vários criadouros, aumentando, assim, as chances de sucesso da sua prole (Colton *et al.*, 2003). Entre os semioquímicos descritos envolvidos no processo de escolha do local para oviposição desta espécie, se destacam o ácido dodecanóico e o heneicosano como substâncias atrativas, e o éster metil dodecano como substância repelente (Mendki *et al.*, 2000; Ganesan *et al.*, 2006; Navarro-Silva *et al.*, 2009).

Dessa forma, detectar os semioquímicos envolvidos no processo de oviposição dos Culicidae mostra-se importante, uma vez que essas informações poderão ser utilizadas para o manejo/controle das populações de espécies vetoras, além da possibilidade de utilização para a otimização do monitoramento de espécies desse grupo através da associação desses compostos com armadilhas de captura (Gama *et al.*, 2007).

Além do estudo dos mecanismos envolvidos no comportamento de oviposição dos Culicidae, a obtenção de informações genéticas das populações desse grupo é importante para que se possa compreender, além da história evolutiva das populações de vetores, a história evolutiva da

epidemiologia das doenças transmitidas por esses insetos (Yan *et al.*, 1998). Para os *Sabethes*, estudos genéticos são escassos, apesar de sua importância epidemiológica (Munstermann & Marchi, 1986; Pedro *et al.*, 2008).

Uma questão importante relacionada aos estudos da genética de populações dos Culicidae é a diferenciação de populações geograficamente isoladas. Frequentemente é possível observar variações geográficas entre populações de mosquitos cuja distribuição é ampla, mas descontínua a ponto de formar barreiras ao fluxo gênico. Isso pode ser observado em populações de *Anopheles gambiae* Giles, 1926 (Taylor *et al.*, 2001) e de *Ae. aegypti* (Gorrochotegui-Escalante *et al.*, 2000).

O DNA mitocondrial (DNAmt) vem sendo largamente utilizado para o estudo da genética de populações de Culicidae e outros organismos. Quando comparado ao DNA nuclear, esse marcador molecular apresenta algumas vantagens: possui um genoma haplóide de origem materna, apresenta múltiplas cópias por célula, em muitos invertebrados os íntrons estão ausentes, e, por fim, apresenta altas taxas de mutações (dez vezes maior do que o DNA nuclear) (Zhang & Hewitt, 1996; Matioli, 2001).

O DNAmt é uma molécula circular e única, com um genoma pequeno (15 a 20kb) que contem 37 genes. Destes, 22 são para RNAs transportadores (tRNAs), 13 para proteínas, e dois para RNAs ribossomais (rRNA). Um desses genes, o COI (Citocromo Oxidase subunidade I), é responsável pela produção da proteína heme (citocromo c), que está envolvida no transporte de elétrons e na translocação de prótons através da membrana e no mecanismo de apoptose de diversos organismos (Zhang & Hewitt, 1996; Zhao *et al.*, 2008). Esse gene é considerado um dos mais variáveis do DNAmt, sendo utilizado em

diversos estudos para Culicidae, especialmente para os gêneros *Aedes*, *Anopheles*, e *Culex* (Rai, 1999).

Scarpassa & Conn (2006) observaram, através da análise do COI, que *An. oswaldoi* Periaassú, 1921, na região amazônica, estava dividido em quatro populações distintas, sendo observada uma ausência de fluxo gênico entre as mesmas. Versteirt *et al.* (2009), também analisando COI, analisaram o processo de introdução e estabelecimento de *Ae. japonicus japonicus* (Theobald, 1901) na Bégica. Vinogradova *et al.* (2007), através do COI e outros marcadores moleculares, analisaram a distribuição geográfica e a estrutura de populações de *Culex pipens* s.l. Linnaeus, 1758 na Rússia.

Apesar de ser a principal espécie colonizadora de criadouros formados a partir de internódios de bambus, existem poucas informações sobre os *Sa. aurescens*. Assim, identificar os fatores associados ao seu comportamento de oviposição e observar como se encontram estruturadas suas populações na Mata Atlântica torna-se relevante para o melhor entendimento da biologia e ecologia desta espécie, bem como poderá fornecer informações a respeito do status de conservação da área estudada, uma vez que esta espécie de Culicidae é restrita ao ambiente silvestre.

OBJETIVOS

Objetivo geral

Analisar o perfil genético, baseado em fragmento da subunidade I do gene mitocondrial citocromo c oxidase, de populações de *Sabethes aurescens* de áreas de mata da região metropolitana de Florianópolis-SC, e identificar fatores que influenciam no seu comportamento de oviposição.

Objetivos específicos

- Identificar os diferentes haplótipos mitocondriais de *Sabethes aurescens* em área do bioma Mata Atlântica;
- Estimar e comparar o grau de variabilidade inter e intrapopulacional, a extensão de fluxo gênico e a divergência genética entre as populações desta espécie;
- Analisar a preferência de oviposição de *Sabethes aurescens* em internódios de bambus com larvas coespecíficas e larvas heteroespecíficas de Culicidae em diferentes densidades populacionais;
- Identificar os possíveis compostos químicos voláteis presentes nos internódios de bambus que possam mediar o comportamento de oviposição de *Sabethes aurescens*.

MATERIAL E MÉTODOS

Relações genéticas do gene COI do DNA mitocondrial de populações de *Sabethes aurescens*

Obtenção dos espécimes

Os espécimes de *Sa. aurescens* utilizados no presente estudo foram obtidos no período entre 01 de fevereiro e 30 de março de 2011 a partir de cinco pontos amostrais, estando quatro localizados na Ilha de Santa Catarina, município de Florianópolis-SC, e um localizado no município de Santo Amaro da Imperatriz-SC, região metropolitana da capital catarinense. Os pontos amostrais estavam inseridos em fragmentos de Floresta Ombrófila Densa, do bioma Mata Atlântica, sendo denominados de: (1) Parque da Lagoa do Peri (LP) (27°43'59,30"S e 48°30'54,41"O); (2) Morro da lagoa da Conceição (ML) (27°35'56,81"S e 48°28'58,97"O); (3) Bairro Pantanal (PA) (27°36'34,79"S e 48°30'57,05"O); (4) Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC) (27°31'55,69"S e 48°30'43,08"O); e (5) Santo Amaro da Imperatriz (SA) (27°43'57,33"S e 48°48'31,38"O) (Figura 1).

Os exemplares de *Sa. aurescens* foram obtidos na forma de larvas e pupas a partir de internódios de bambus localizados nos diferentes pontos amostrais anteriormente apontados e, posteriormente, foram criados em laboratório até a forma adulta. Os procedimentos para a obtenção dos imaturos seguiu a metodologia descrita por Marcondes & Mafra (2003), onde foram realizadas perfurações nas laterais dos internódios de bambus com o auxílio de

uma furadeira elétrica 12 V com bateria acoplada. Após um período de 30 dias, os internódios perfurados foram cortados com auxílio de um facão, e seu conteúdo depositado em uma bandeja plástica e posteriormente em frascos plásticos com capacidade de 500ml para serem transportados até o Laboratório de Entomologia Médica da Universidade Federal de Santa Catarina (Figura 2).



Figura 1. Localização dos pontos amostrais onde foram coletadas as populações de *Sabethes aurescens*. **(A)** Mapa do Brasil. **(B)** Detalhe da região onde foram estabelecidos os pontos de amostragem: **LP**: Parque Lagoa do Peri, **ML**: Morro da Lagoa da Conceição, **PA**: Bairro Pantanal, **UC**: Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e **SA**: Santo Amaro da Imperatriz.



Figura 2. Procedimentos de coletas de imaturos de *Sabethes aurescens*. **A:** Perfuração lateral de internódios de bambus. **B:** Corte dos internódios de bambus. **C:** Transferência do conteúdo aquático para uma bandeja plástica. **D:** Armazenamento do conteúdo aquático em frascos plásticos.

Em laboratório, os imaturos presentes no conteúdo aquático foram separados em pequenos potes plásticos com capacidade de 20ml e criados separadamente, na própria água dos bambus. Os potes de criação foram colocados no interior de potes plásticos maiores e telados para que os adultos, após a emergência, ficassem retidos. Os adultos foram mortos com vapor de acetado de etila, e posteriormente montados em triângulos de papel e alfinetes entomológicos de acordo com Almeida *et al.* (2003). Após a montagem, os culicídeos foram identificados ao nível específico com o emprego da chave de identificação contida em Forattini (2002) e através dos caracteres descritos em Lutz (1905).

Após serem identificados, os exemplares de *Sa. aurescens* foram armazenados em *eppendorfs* com álcool absoluto e depositados em freezer - 20°C (Oliveira *et al.*, 2003).

Procedimentos em laboratório

Extração do DNA

A extração do DNA dos culicídeos seguiu o protocolo de Cheung *et al.* (1993) modificado por França (2005). Assim, os exemplares adultos foram macerados individualmente em tubo de microcentrífuga de 1,5ml contendo 160µl de tampão de extração (Tris-HCl 200mM, pH 8, NaCl 2M e EDTA 70mM), e 20µl de SDS 10%. Posteriormente a solução foi homogeneizada e incubada por 90 min. a 60°C.

Após resfriamento do material, em temperatura ambiente, foi acrescentado 50µl de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1), seguido de uma centrifugação com duração de 15 min. a 13.000rpm. O sobrenadante foi transferido para novo tubo de microcentrífuga de 1,5ml, adicionado 80µl de acetato de amônio 7,5M e 300µl de etanol 96%. A solução foi homogeneizada por inversão e mantida por 2 horas em freezer -20°C para precipitação do DNA. Após 15 minutos de centrifugação, a 13.000rpm, o sobrenadante foi descartado e o DNA lavado com 1.000µl de etanol 70% e seco sob estufa a 37°C. Posteriormente, o DNA foi re-suspendido em 50µl de TE (Tris-HCl 10mM e EDTA 1mM pH8.0) e armazenado a -20°C. O DNA total extraído foi

quantificado em espectrofotômetro (NanoDrop™) e armazenado em freezer a -80°C.

Reação de amplificação

A região de DNA mitocondrial referente à porção final do citocromo c oxidase subunidade I (COI) foi amplificada através da reação em cadeia da polimerase (PCR). As reações de amplificação seguiram protocolo estabelecido por Cywinska *et al.* (2006). Estas reações foram conduzidas em volume final de 50µl, contendo 20mM de Tris-HCL (pH 8,4), 50mM KCl, 0,5mM de cada iniciador, 2mM de MgCl₂, 0,2mM de dNTP, 20ng de DNA, 2U de Taq DNA Polimerase e água ultra pura estéril (Milli-Q®) estéril para completar o volume final. As reações de amplificação foram realizadas em um termociclador Amplitherm, e os iniciadores utilizados nas reações de amplificação foram: LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') e HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') (Cywinska *et al.*, 2006).

As reações foram realizadas utilizando os seguintes parâmetros: um ciclo de 95°C por um minuto, 35 ciclos de 94°C por um minuto, 50,7°C por um minuto, e 72°C por um minuto e 30 segundos, e um ciclo final de 72°C por sete minutos. Após amplificação, 10% do volume do produto de PCR foi submetido à eletroforese em gel de agarose 1%, para confirmação do sucesso da amplificação e verificação do tamanho do fragmento amplificado, utilizando como marcador de massa molecular 100pb Ladder (Amresco).

Purificação dos produtos de PCR e seqüenciamento nucleotídico

Para o seqüenciamento dos nucleotídeos os amplicons foram purificados utilizando o Kit comercial QIAquick Gel Extraction (Qiagen), o qual utiliza colunas de retenção a base de sílica, seguindo o protocolo descrito pelo fabricante. O produto da purificação foi posteriormente quantificado através da aplicação de 1µl do mesmo em espectrofotômetro (NanoDropTM).

As amostras, com no mínimo 20ng/µl de amplificado, foram posteriormente encaminhadas para a empresa Genomic Engenharia Molecular Ltda. (São Paulo-SP), juntamente com os iniciadores citados anteriormente, onde foram processadas as reações de seqüenciamento das amostras utilizando BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Os produtos de seqüenciamento foram submetidos à eletroforese em seqüenciador modelo 3130xl da Applied Biosystems.

Análise das seqüências

As amostras tiveram suas seqüências de consenso geradas no Staden Package (Staden *et al.* 1992-2000), onde foram inspecionadas visualmente os eletroforetogramas para busca de possíveis erros de leitura, inserções ou deleções. As seqüências obtidas foram comparadas com aquelas disponíveis no GenBank, utilizando a ferramenta BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), para confirmação da identidade do fragmento gênico amplificado. O alinhamento foi realizado no programa ClustalX 1.8 (Thompson *et al.*, 1997). As seqüências foram lidas no programa

BIOEDIT (Hall, 1999), sendo novamente inspecionadas visualmente para busca de possíveis erros, bem como para a codificação de inserções ou deleções.

Análises de polimorfismo molecular

Diversidade genética

Os haplótipos são compostos por conjuntos de seqüências nucleotídicas que compartilham a mesma composição e ordenamento. A diversidade de haplótipos, então, é definida como a probabilidade de duas seqüências, escolhidas ao acaso em uma população, serem diferentes. Já a diversidade nucleotídica, é definida como o número de nucleotídeos diferentes por sítio, entre seqüências escolhidas aleatoriamente. No presente estudo, essas duas medidas de diversidade genética foram estimadas pelo programa Arlequin, versão 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) e pelo programa DnaSP, versão 4.10 (Rozas *et al.*, 2003).

Testes de neutralidade

De acordo com a teoria neutra de mutações de Kimura (1968) a maior parte das substituições de nucleotídeos que ocorrem nos indivíduos de uma determinada população e que são fixadas, são neutras em relação ao sucesso reprodutivo (*fitness*) e a sobrevivência da espécie. Para testar se a substituição de nucleotídeos seguiu esta teoria, foram realizados os teste de D de Tajima

(Tajima, 1989), F^* e D^* de seletividade neutra (Fu & Li, 1993) e F_s de Fu (Fu, 1997) com significância de $p < 0,05$, através dos programas DnaSP, versão 4.5 (Rozas *et al.*, 2003) e Arlequin versão 2.000 (Schneider *et al.*, 2000).

Análise de variância molecular (AMOVA)

A análise de variância molecular (AMOVA) foi realizada para verificar a existência de populações diferenciadas, através da análise do grau de significância intra e interpopulacional. Para isso, foi levando em consideração o número de mutações entre os haplótipos.

Os cálculos de AMOVA estão baseados no método descrito por Excoffier *et al.* (1992) e foram realizados com o emprego do programa Arlequin, versão 2.000 (Schneider *et al.*, 2000). As populações foram reunidas em grupos previamente definidos com base em critérios geográficos relacionados aos pontos de amostragem, sendo que os resultados basearam-se em permutações entre os grupos (F_{ct}), valores de permutação entre as populações dentro dos grupos (F_{sc}), e valores de permutação dentro das populações (F_{st}).

Estruturação das populações

Através do programa Arlequin versão 2.000 (Schneider *et al.*, 2000) foram obtidos os valores do número efetivo de migrantes (N_m) e os valores do índice de fixação (F_{st}) para avaliar a estruturação das populações de *Sa. aurescens*. Neste processo, foram realizadas 3.000 permutações paramétricas

entre os haplótipos das populações. Estes índices (N_m e F_{st}) são associados pela seguinte relação $F_{st} = 1/2 N_m + 1$.

Isolamento por distância

O isolamento por distância foi testado através do método desenvolvido por Mantel (1967) e implementado no programa IBDWS - *Isolation by Distance web service*, versão 3.16 (ibdws.sdsu.edu/). Este método realiza uma análise de correlação entre matrizes de similaridade genética e matrizes de distância geográfica. Para isto, a distância genética (similaridade) foi obtida pelo programa Arlequin versão 2.000 (Schneider *et al.*, 2000) e as distâncias geográficas entre as populações foram obtidas através do programa computacional Google Earth 5.0.

Análises dos haplótipos

Foi inferida a genealogia entre os haplótipos por meio da construção de uma rede de haplótipos com o emprego do programa TCS versão 1.21 (Clement *et al.*, 2000). Este programa estima a relação entre haplótipos com base no método de parcimônia, agrupando-os a partir das mutações obtidas em suas seqüências. O tamanho das elipses é proporcional ao número de indivíduos encontrados em cada haplótipo. Os círculos menores, que ligam os haplótipos identificados, correspondem aos haplótipos não amostrados (*missing haplotypes*) e classificados como intermediários.

Também foi construído um dendrograma de haplótipos baseado em ferramentas disponíveis no programa Mega, versão 3.1 (Kumar *et al.*, 2004). Este dendrograma foi baseado no método de Neighbor-Joining, seguindo o modelo de distância genética de Tamura-Nei, com o emprego de 1.000 réplicas. Foi incluído como grupo externo (*outgroup*) as seqüências haplotípicas do gene COI de *Sabethes cyaneus* (GenBank # GU908121). Um segundo dendrograma de haplótipos em função dos pontos de amostragem foi construído baseado no coeficiente de distância de Bray-Curtis (Krebs, 1989) utilizando o programa Past 3.0.

Seleção do habitat para oviposição de *Sabethes aurescens* em resposta a presença de larvas coespecíficas e heteroespecíficas

Área de estudo

Este estudo foi desenvolvido em um bambual composto por *Bambusa tuldoides* Munro, 1868 e que apresentava, aproximadamente, 40m² de área e estava localizado na borda da mata (27°31'56,56" S e 48°30'44,68" O), na entrada da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC), Ilha de Santa Catarina, Florianópolis-SC (Figura 1 e 3). A área da UC é composta por floresta ombrófila densa, em diferentes estádios de regeneração (Bonnet & Queiroz, 2006).



Figura 3. **A:** Vista geral da mata da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC). **B:** Em detalhe, o bambual onde o presente estudo foi realizado.

Procedimentos para a obtenção das larvas

As larvas de *Sa. aurescens*, *Wy. limai*, e *Toxorhynchites* spp. utilizadas no presente estudo foram obtidas através da metodologia de perfuração de internódios de bambu descrita por Marcondes & Mafra (2006). Assim, foram perfurados 250 internódios de bambus, e após um período de 30 dias, estes foram cortados e seu conteúdo aquático levado ao Laboratório de Entomologia Médica e Veterinária da Universidade Federal de Santa Catarina em frascos plásticos (Figura 2).

No laboratório, as larvas foram separadas em pequenos potes plásticos com capacidade de 20ml e criadas na própria água dos bambus em temperatura ambiente até o quarto estágio de desenvolvimento. As larvas de

Toxorhynchites spp. foram alimentadas em intervalos de três dias com larvas de *Ae. albopictus* (Skuse, 1894) provenientes da colônia mantida no próprio laboratório. Quando as larvas das três espécies atingiam o quarto estágio de desenvolvimento, eram transferidas para frascos plásticos contendo apenas água destilada e mantidas em câmaras climatizadas (B.O.D.) em temperaturas de $16 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ para que o tempo do seu desenvolvimento fosse retardado.

As larvas de *Sa. aurescens* e *Wy. limai* tiveram sua confirmação específica com base nos caracteres descritos em Forattini *et al.* (1960), Harbach (1991), e Forattini (2002). Os exemplares de *Toxorhynchites* spp. foram identificados como gênero com base nos caracteres descritos em Lane (1953). Para que as larvas pudessem ser identificadas vivas, as mesmas foram transferidas para uma placa de Petri com uma fina lâmina de água e posteriormente colocadas em um freezer -20°C por um período de aproximadamente cinco minutos para que diminuíssem sua atividade e movimentação. Após este procedimento, as mesmas eram identificadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico e, imediatamente, devolvidas aos potes plásticos de criação.

Dois exemplares de cada taxa utilizado no presente estudo foram fixados em lâminas permanentes de acordo com o descrito por Dodge (1966) e, posteriormente, depositados na Coleção Entomológica do Laboratório de Entomologia Médica da Universidade Federal de Santa Catarina e na Coleção de Entomologia Pe. Jesus Santiago Moure do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná.

Procedimentos de campo e desenho experimental

O desenho experimental do estudo foi composto por cinco tratamentos com seis réplicas cada. O primeiro tratamento foi composto por uma larva de *Sa. aurescens* e água destilada, o segundo foi composto por cinco larvas de *Sa. aurescens* e água destilada, o terceiro tratamento foi formado por uma larva de *Wy. limai* e água destilada, o quarto tratamento foi realizado a partir de uma larva de *Toxorhynchites* spp. e água destilada, e o quinto tratamento foi composto apenas por água destilada (controle). Foram utilizados 150 ml de água destilada por réplica, sendo que as larvas eram colocadas em contato com a água destilada com antecedência de 24 horas da sua inserção nos internódios de bambus em campo.

Foram selecionados 30 bambus, todos localizados na região periférica do bambual, sendo, então, utilizado no estudo um internódio por planta. Todos os internódios selecionados apresentavam tamanho semelhante (40cm de comprimento) e estavam localizados a uma altura de 1,5m do solo aproximadamente. Os internódios selecionados foram escolhidos aleatoriamente, por sorteio, para receber uma réplica de cada tratamento (Figura 3B).

Foram realizadas duas perfurações, com auxílio de uma furadeira elétrica, em cada internódio. A primeira perfuração apresentava 2cm de diâmetro e estava localizada a 5 cm abaixo da margem (entrenó) superior do internódio. Esta perfuração foi utilizada para a colocação e retirada dos componentes de cada tratamento (larvas e água), a qual permanecia

temporariamente fechada através do emprego de uma fita isolante para evitar a evaporação do conteúdo.

A segunda perfuração apresentava 0,5cm de diâmetro e estava localizada a 10 cm abaixo da margem (entrenó) superior do internódio (Figura 4-A). Esta perfuração, por sua vez, ficava permanentemente aberta para permitir que as fêmeas adultas de *Sa. aurescens* pudessem realizar a oviposição no interior dos internódios (Figura 4-B).

Para inserir o material contendo as larvas e a água destilada através da perfuração maior foi utilizado um funil plástico, sendo que após um intervalo de três dias o material era substituído por um de igual composição para evitar que as larvas utilizadas se transformassem em pupas ou morressem. Este material era retirado com o emprego de um sifão plástico de sucção com duas mangueiras plásticas (Müller *et al.*, 2010). O experimento teve duração de trinta dias (entre 03 de maio e 01 de junho de 2011), e todo o material retirado dos internódios a cada três dias era levado ao laboratório e acondicionado em frascos plásticos por um período de até 20 dias para que as larvas que eclodissem a partir de ovos postos por fêmeas de *Sa. aurescens* fossem identificadas e quantificadas (Figura 4-C e D).



Figura 4. **A:** Perfurações realizadas nos internódios de bambu. **B:** Perfuração maior tapada com fita adesiva. **C:** Potes plásticos utilizados para o transporte e acondicionamento do material colocado e retirado dos internódios de bambu. **D:** Retirada do material dos internódios de bambu com o emprego de um sifão de sucção.

Análises estatísticas

Os dados obtidos no presente estudo tiveram sua normalidade e a homogeneidade determinadas pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (Lilliefors) e Levene, respectivamente. Para testar a diferença do número médio de larvas de *Sa. aurescens* obtidos em cada tratamento utilizou-se Análise de Variância (ANOVA), um fator, seguida do teste de Tukey (Zar, 1996). Todos os testes

estatísticos foram realizados através do programa estatístico STATISTICA, versão 7.0.

Identificação de compostos químicos voláteis presentes na água dos internódios de bambu

Obtenção das amostras

As cinco combinações de tratamentos utilizadas anteriormente para a análise de oviposição de *Sa. aurescens* em campo foram utilizadas para que o seu conteúdo aquático fosse analisado. Para isso, estes tratamentos foram inseridos em cinco internódios de bambus de plantas localizadas na Unidade de Conservação Ambiental Desterro (Figura 3). Após três dias, o conteúdo aquático de cada internódio foi retirado e este, armazenado em garrafas de vidro com capacidade para 300 ml para serem levados ao laboratório para as análises.

Análise química das amostras

Preparação das amostras (Pré-análise)

As amostras refrigeradas com gelo no interior de caixas de isopor foram levadas para o Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR) e armazenadas em geladeira a 5° C. Posteriormente, as amostras foram filtradas com papel filtro do tipo Faixa Preta.

Procedimentos para a análise das amostras

Uma alíquota de 20mL de cada amostra foi inserida no vaso de purga do concentrador tipo *purge-and-trap* Tekmar 3.100 (Teledyne Tekmar, EUA) contendo uma coluna de retenção de analitos (*trap*) VOCARB 4.000 constituído de mistura dos adsorventes comerciais Carboxen C, Carboxen B, Carboxen 1.000 e Carboxen 1.001.

Pela amostra, mantida a 45°C, foi passado um fluxo de gás Hélio (He) durante 45 minutos. Esse gás arrasta os componentes voláteis da amostra que são retidos na coluna de retenção *trap*, a qual foi mantida a 30°C. Após o tempo de purga, o *trap* foi aquecido rapidamente a 260°C para provocar a desorção de todos os compostos voláteis retidos. Posteriormente, o gás de arraste do sistema de cromatografia acoplado ao detector de massas (CG-EM) foi direcionado para passar através do *trap* no sentido contrário ao da fase de purga. Estes compostos foram direcionados para o injetor do sistema CG-EM, separados em coluna capilar e detectados pelo espectrômetro de massas (Bellar *et al.*, 1974).

O sistema GC-MS utilizado foi o cromatógrafo gasoso Varian CP-3.800 acoplado ao detector de massas Saturn 2000 tipo *ion trap* com ionização por impacto de elétrons operando a 70eV. Uma coluna cromatográfica capilar CP-Sil-8 CB low bleed (Varian) de 30m x 0,25mm x 0,25µm (comprimento x diâmetro x espessura do filme) foi utilizada, com a seguinte programação de temperatura: início em 30°C e mantida por cinco minutos, aumentada até 80° C a 10°C/minuto, aumentada até 200°C a 4°C/minuto, aumentada até 260°C a 10°C/minuto, e mantida por um minuto. Um padrão interno constituído de

acetato de n-butila correspondente a 50ng/mL (50ppb) foi utilizado para monitorar a eficiência da transferência e detecção de substâncias orgânicas voláteis presentes em pequena concentração em uma fase aquosa (Bellar *et al.*, 1974).

Identificação-tentativa dos compostos químicos das amostras

Inicialmente uma análise denominada de “branco analítico” foi realizada utilizando água ultra pura grau CLAE para detecção dos picos cromatográficos oriundos de compostos liberados pelos adsorbentes do *trap* e pela coluna cromatográfica, normalmente sililados, além de clorofórmio e tolueno que são contaminações comuns devido a serem utilizados como padrões em outras análises de rotina. Todos estes picos de “contaminantes” foram descontados (ou desconsiderados) nos cromatogramas das amostras, baseando-se na coincidência dos tempos de retenção e de seus espectros de massas.

A presença de picos cromatográficos de diferentes tempos de retenção nas amostras foi identificada, sendo que suas identidades foram atribuídas tentativamente por comparação com a biblioteca de espectros da NIST 2005.

RESULTADOS

Relações genéticas do gene COI do DNA mitocondrial de populações de *Sabethes aurescens*

As análises do gene COI evidenciaram, na amplificação, fragmentos correspondentes a, aproximadamente, 700 pares de bases (pb) nos 67 indivíduos das cinco populações de *Sa. aurescens* estudadas (Figura 5). Estes fragmentos foram seqüenciados e 597pb foram selecionados para o alinhamento das seqüências, sendo que, destes, 15 sítios foram polimórficos, com 12 deles informativos para a parcimônia. A composição média de nucleotídeos observada nas populações foi de 41,66% para Adenina, 14,88% para Citosina, 15,41% para Guanina, e 28,05% para Timina.

Nas cinco populações analisadas foram encontrados 16 haplótipos. O haplótipo mais abundante foi o H1 (37,31%), sendo este encontrado em todas as populações. O haplótipo H6 foi o segundo mais abundante (23,88%), sendo sua ocorrência observada, com exceção da população do Bairro Pantanal, em todas as populações. O haplótipo H8, o terceiro mais abundante no estudo (14,92%), no entanto, foi observado apenas no Bairro Pantanal (PA). Os haplótipos H11 (5,97%), H2 (2,98%), e H16 (2,98%) ocorreram exclusivamente nas populações de Santo Amaro da Imperatriz (SA), do Parque da Lagoa do Peri (LP), e da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC), respectivamente. Os outros 11 haplótipos referiram-se a haplótipos do tipo *singletons*, ou seja, haplótipos que foram identificados exclusivamente em um

indivíduo estudado (Tabela I). As posições variáveis observadas nos 16 haplótipos identificados foram registradas (Tabela II).

Com base no método da parcimônia, foi gerada uma rede de haplótipos. O haplótipo H6, representado por um retângulo, é provavelmente o haplótipo ancestral entre os indivíduos estudados, sendo sua presença registrada com maior frequência na área continental de Santo Amaro da Imperatriz (SA) (Figura 6; Tabela I).

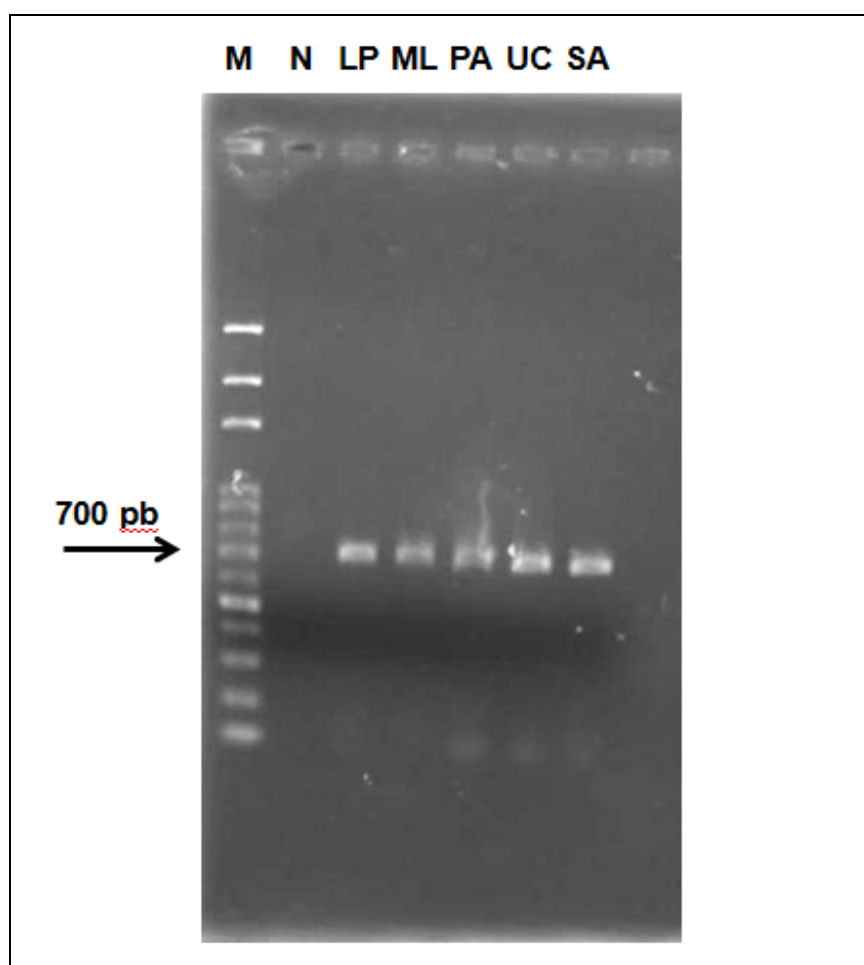


Figura 5. Visualização em gel de agarose 1% dos produtos de PCR do gene citocromo c oxidase I dos espécimes de *Sabethes aurescens* provenientes das populações de: **LP**: Parque Lagoa do Peri, **ML**: Morro da Lagoa da Conceição, **PA**: Bairro Pantanal, **UC**: Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e **SA**: Santo Amaro da Imperatriz. **M**: marcador de massa molecular ladder, e **N**: controle negativo.

Tabela I. Distribuição haplotípica da frequência absoluta das cinco populações de *Sabethes aurescens* capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Populações de <i>Sabethes aurescens</i>						
Haplótipos	LP	ML	PA	UC	SA	Total
H1	9	7	3	5	1	25
H2	2	-	-	-	-	2
H3	1	-	-	-	-	1
H4	1	-	-	-	-	1
H5	1	-	-	-	-	1
H6	1	1	-	2	10	14
H7	1	-	-	-	-	1
H8	-	-	10	-	-	10
H9	-	-	1	-	-	1
H10	-	-	1	-	-	1
H11	-	-	-	-	4	4
H12	-	-	-	1	-	1
H13	-	-	-	1	-	1
H14	-	-	-	1	-	1
H15	-	-	-	1	-	1
H16	-	-	-	2	-	2
Total	16	8	15	13	15	67

LP: Parque Lagoa do Peri, ML: Morro da Lagoa da Conceição, PA: Bairro Pantanal, UC: Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e SA: Santo Amaro da Imperatriz.

Tabela II. Sítios variáveis observados nos 16 haplótipos do gene COI de *Sabethes aurescens* capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Posições das mudanças nucleotídicas															
Haplótipos	6	9	16	18	19	20	21	47	70	110	245	286	350	485	563
H1	T	C	G	A	T	C	A	G	A	A	T	C	T	A	T
H2	T	T	G	A	T	C	A	A	G	A	T	C	T	A	T
H3	T	C	G	A	A	C	C	G	A	A	T	C	C	A	T
H4	T	T	G	G	A	T	C	G	A	A	T	C	T	A	T
H5	C	T	G	A	T	C	A	G	A	G	T	C	T	A	T
H6	T	T	G	A	T	C	A	G	A	A	T	C	T	A	T
H7	T	C	T	G	A	T	C	G	A	A	T	C	T	A	T
H8	T	T	G	A	T	C	A	G	A	A	T	C	T	A	C
H9	T	C	G	A	T	T	C	G	A	A	T	C	T	A	T
H10	T	T	G	G	A	T	C	G	A	A	T	C	T	A	C
H11	T	T	G	A	T	C	A	G	A	A	T	C	T	T	T
H12	T	C	G	A	T	C	A	G	A	A	T	C	T	A	T
H13	T	C	G	A	T	C	C	A	A	A	T	T	C	A	T
H14	T	C	G	G	A	T	C	G	A	A	T	C	T	A	T
H15	T	C	G	A	T	T	C	A	A	A	T	T	C	A	T
H16	T	T	G	A	T	C	A	G	A	A	C	C	T	A	T

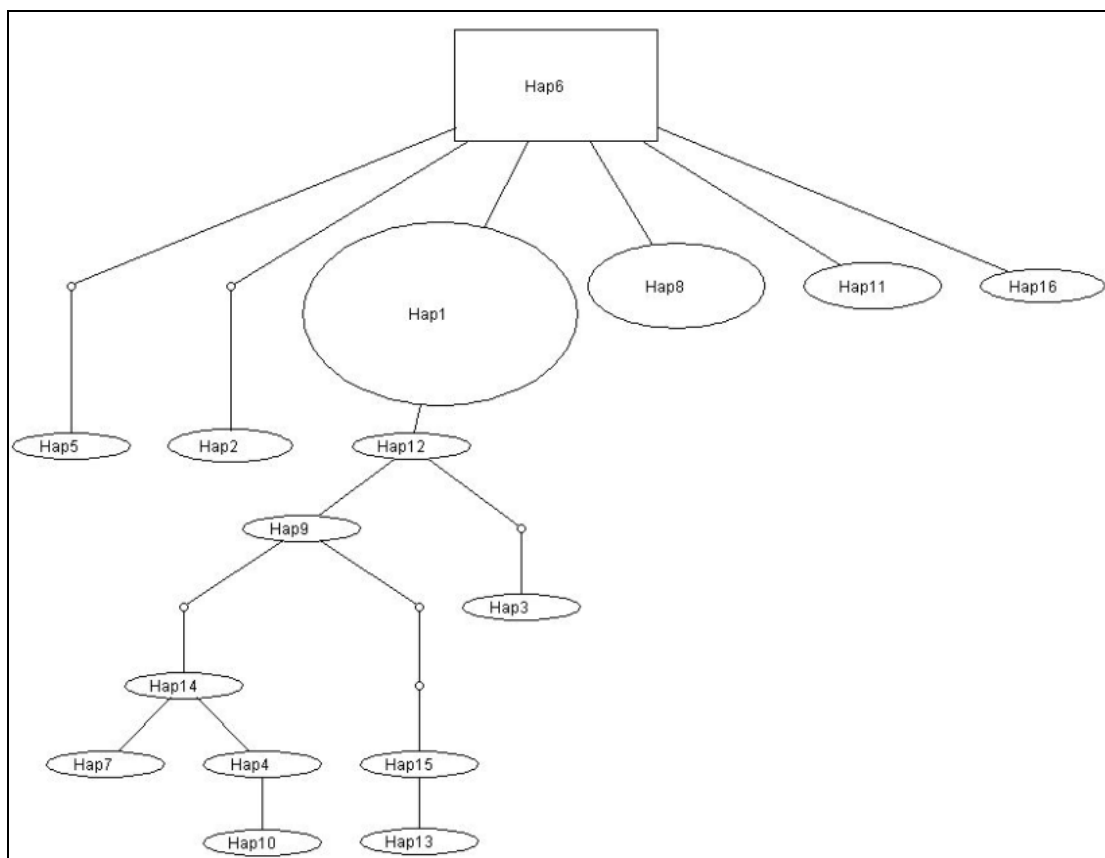


Figura 6. Rede de haplótipos do gene COI observada para as amostras de *Sabethes aurescens* capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Considerando a similaridade (coeficiente de similaridade de Bray-Curtis) do número e freqüência de haplótipos observados nas populações estudadas, observou-se que as populações do Parque da Lagoa do Peri (LP) e do Morro da Lagoa da Conceição (ML) apresentaram a maior similaridade (70%). A população de Santo Amaro da Imperatriz (SA) apresentou a menor similaridade em relação às demais populações, com apenas 15% de semelhança no que se refere à presença ou à ausência dos haplótipos (Figura 7).

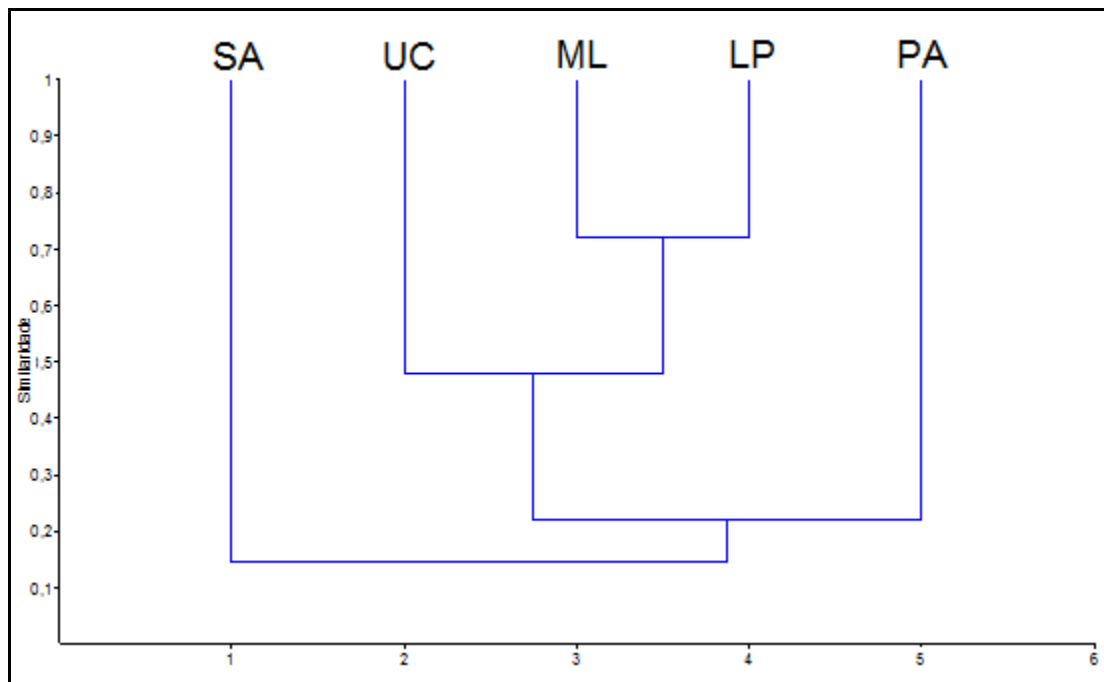


Figura 7. Análise de similaridade (Bray-Curtis) com base na composição haplotípica para as populações de *Sabethes aurescens* capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **LP:** Parque Lagoa do Peri, **ML:** Morro da Lagoa da Conceição, **PA:** Bairro Pantanal, **UC:** Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e **SA:** Santo Amaro da Imperatriz.

A diversidade haplotípica (H_d) para a população de *Sa. aurescens*, como um todo, foi de 0,799 enquanto que a diversidade nucleotídica (P_i) foi de 0,00339. O número médio de diferenças nucleotídicas (K) foi de 2,022. Considerando as populações separadamente, a originada a partir da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC) apresentou os maiores valores de diversidade haplotípica e nucleotídica. A população originada a partir do Morro da Lagoa da Conceição (ML) apresentou os menores valores de diversidade haplotípica e nucleotídica (Tabela III).

Tabela III. Diversidade genética calculada para as cinco populações de *Sabethes aurescens* capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

População	N	NH	Hd	Pi
Parque Lagoa do Peri	16	7	0,692	0,00426
Morro da Lagoa da Conceição	8	2	0,250	0,00042
Bairro Pantanal	15	4	0,543	0,00268
Unidade de Conservação Ambiental Desterro	13	7	0,846	0,00442
Santo Amaro da Imperatriz	15	3	0,514	0,00093
Total	67	16	0,799	0,00339

N: número de indivíduos; **NH:** número de haplótipos encontrados; **Hd:** diversidade haplotípica; **Pi:** diversidade nucleotídica.

Os valores dos testes de neutralidade D de Tajima, D* e F* de Fu & Li, e Fs de Fu, foram aplicados a todas as populações em conjunto e também separadamente, sendo que não apresentaram valores significativos ($p > 0,05$). Isso indica que o polimorfismo genético está de acordo com o modelo neutro de mutações (Tabela IV).

Tabela IV. Resultados dos testes de neutralidade das populações de *Sabethes aurescens* capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. Todos os valores foram não significativos ($p > 0,05$).

População	D de Tajima	D* de Fu & Li	F* de Fu & Li	Fs de Fu
LP	-0,88138	-0,18886	-0,43707	-1,002
ML	-1,05482	-1,12639	-1,20353	-0,182
PA	-0,46531	-0,01484	-0,15497	0,743
UC	-0,60437	0,50976	0,32309	-1,465
SA	-0,26826	-0,47619	-0,48083	-0,248
Total	-0,60437	0,09389	-0,36227	-6,989

LP= Parque Lagoa do Peri, **ML=** Morro da Lagoa da Conceição, **PA=** Bairro Pantanal, **UC=** Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e **SA=** Santo Amaro da Imperatriz.

A análise de variância molecular (AMOVA) foi empregada para detectar a variação genética dentro e entre as populações de *Sa. aurescens* estudadas, o que revelou que a maioria das variações genéticas ocorreram dentro das

populações (84,54%) ($F_{st}= 0,154$; $p < 0,05$) (Tabela V). Quando as populações da UC, ML e PA foram consideradas como uma única população, devido sua proximidade geográfica na Ilha de Santa Catarina, a análise de variância molecular (AMOVA) também demonstrou uma variação genética superior ocorrendo dentro das populações (91,42%) ($F_{st}= 0,085$; $p < 0,05$) (Tabela VI).

Tabela V. Análise de variância molecular (AMOVA) das populações de *Sabethes aurescens* capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

Tipo de Variação	GL	CV	Variação (%)	Índice de Fixação	p
Entre os grupos	4	0,226	15,46	$F_{ST}= 0,155$	$<10^{-5}$
Dentro das populações	62	1,240	84,54		
Total	66	1,467			

GL: graus de liberdade; **CV:** componentes de variação; **p:** significância

Tabela VI. Análise de variância molecular (AMOVA) das populações de *Sabethes aurescens*, capturadas em diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. As populações da Unidade de Conservação Ambiental Desterro, do Morro da Lagoa, e do Bairro Pantanal foram consideradas como uma única população.

Tipo de Variação	GL	CV	Variação (%)	Índice de Fixação	p
Entre os grupos	2	0,126	8,58	$F_{ST}= 0,086$	$<10^{-5}$
Dentro das populações	64	1,345	91,42		
Total	66	1,467			

GL: graus de liberdade; **CV:** componentes de variação; **p:** significância

A diferenciação genética entre as cinco populações estudadas foi analisada utilizando os valores par-a-par da distância genética (F_{st}) e também pelo número efetivo de migrantes (N_m). Os valores significativos de F_{st} demonstraram, principalmente, um padrão com uma baixa distância genética entre as populações de UC e ML ($F_{st}= 0,008$) e padrões com uma alta distância genética alta, como a registrada para SA e ML ($F_{st}= 0,601$). Entre a população UC e ML foi observada um valor de 59,935 migrantes por geração

(Nm) e entre a SA e ML, um valor de apenas 0,331 migrantes por geração (Nm) (Tabela VII).

Tabela VII. Valores da distância genética *Fst* par-a-par (acima da diagonal) e número efetivo de migrantes (Nm) (abaixo da diagonal) em cinco populações de *Sabethes aurescens* de diferentes fragmentos de Mata Atlântica na região metropolitana de Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **LP:** Parque Lagoa do Peri, **ML:** Morro da Lagoa da Conceição, **PA:** Bairro Pantanal, **UC:** Unidade de Conservação Ambiental Desterro, e **SA:** Santo Amaro da Imperatriz. Valores marcados com (*) apresentam significância ($p < 0,05$).

	LP	ML	PA	SA	UC
LP		-0,014	0,177*	0,167*	0,045
ML	inf		0,422*	0,601*	0,008*
PA	2,322	0,682		0,366*	0,186*
SA	2,491	0,331	0,865		0,190*
UC	inf	59,953	2,175	2,127	

A relação entre a distância geográfica e distância genética das cinco populações estudadas foi estimada pelo teste de Mantel, revelando um valor não significativo ($r = 0,307$; $p = 0,756$) (Figura 8). Considerando as populações de UC, ML e PA como uma única população, o valor da relação entre a distância geográfica e genética também foi não significativo ($r = 0,66$; $p = 0,812$) (Figura 9).

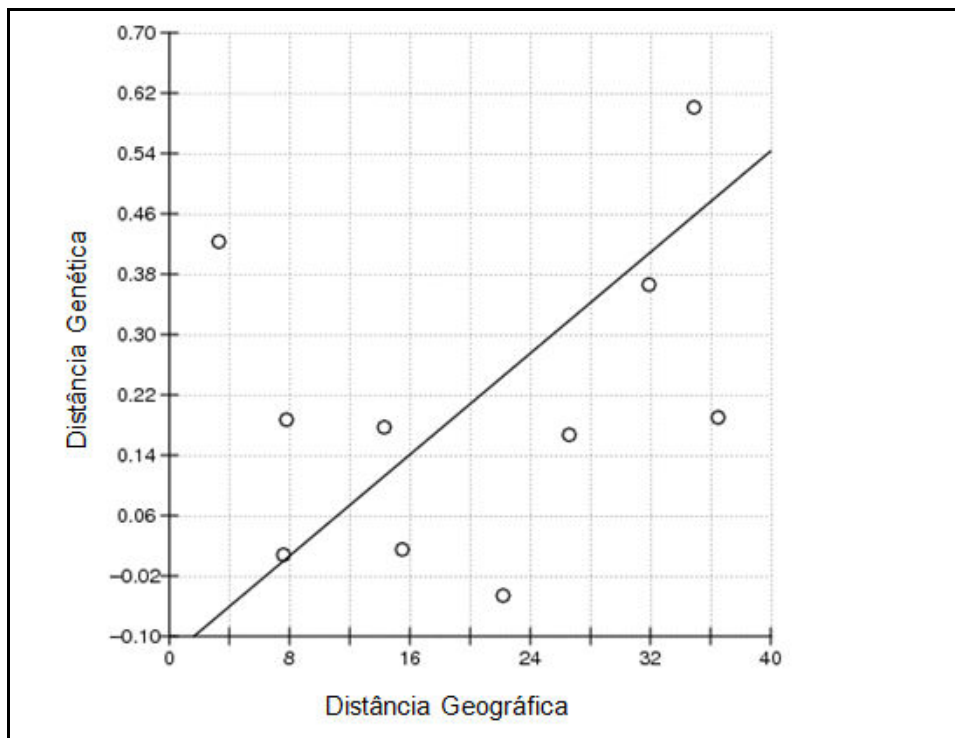


Figura 8. Gráfico de regressão de Mantel para as cinco populações de *Sabethes aurescens* com a utilização do *Fst* par a par.

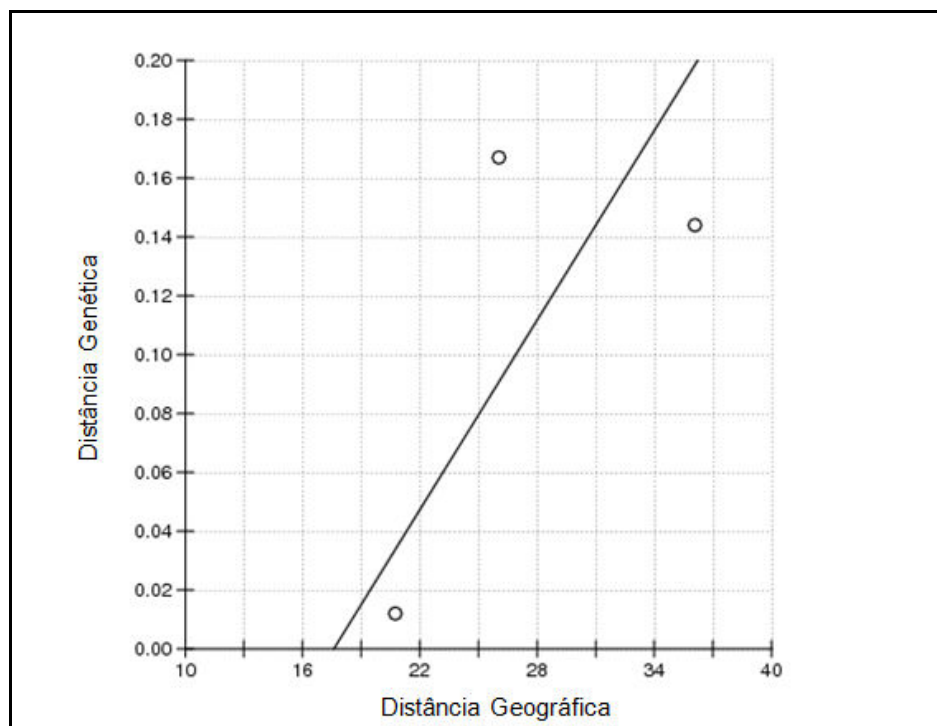


Figura 9. Gráfico de regressão de Mantel para três populações de *Sabethes aurescens* com a utilização do *Fst* par a par. Populações da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC), Morro da Lagoa da Conceição (ML), e Bairro Pantanal (PA) foram consideradas como apenas uma única população.

Também foi construído um dendrograma baseado no método de agrupamento de vizinhos (Neighbor-Joining) para demonstrar a relação genética existente entre os 16 haplótipos encontrados. Para tanto, a região homóloga do gene COI de *Sa. cyaneus* foi utilizada como grupo externo (*outgroup*). Este dendrograma não apresentou agrupamentos evidentes dos haplótipos, pois apresentou baixos valores de *bootstrap* nos ramos (Figura 10).

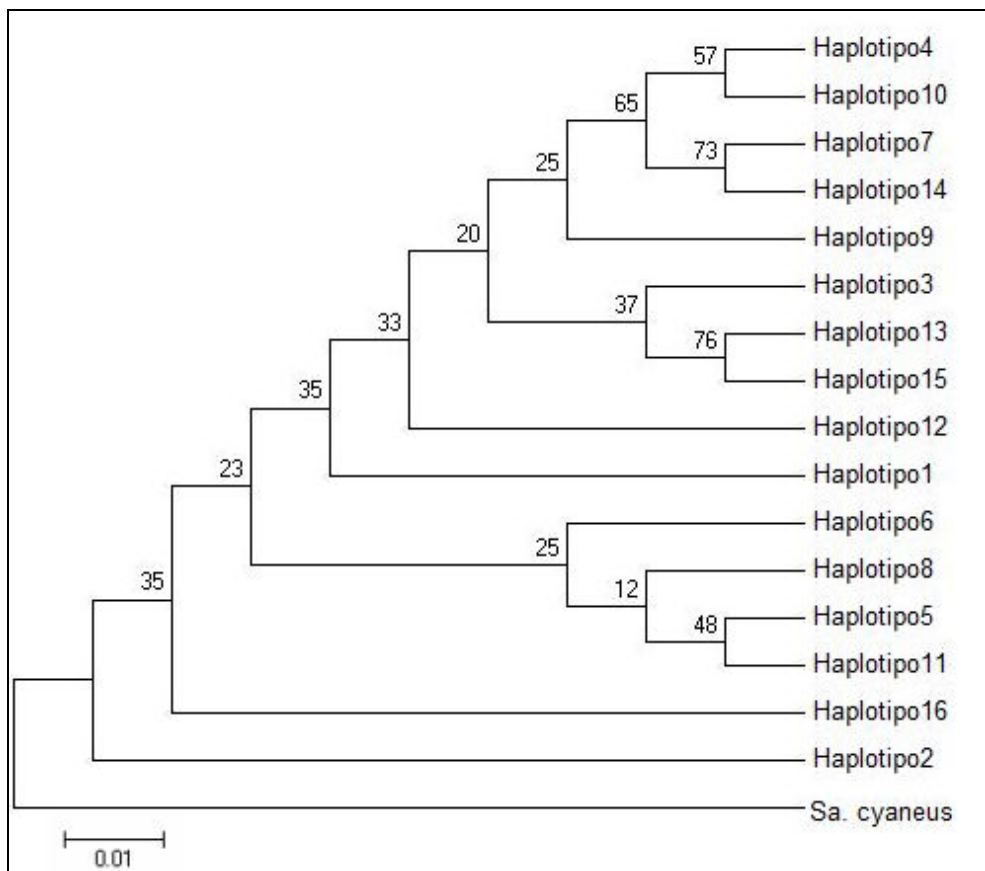


Figura 10. Dendrograma dos 16 haplótipos de *Sabethes aurescens* utilizando o método de Neighbor-Joining (modelo de distância genética de Tamura-Nei), com inclusão de *Sabethes cyaneus* (GenBank # GU908121) como grupo externo. Os valores de *bootstrap* encontram-se nos ramos.

Seleção do habitat para oviposição de *Sabethes aurescens* em resposta a presença de larvas coespecíficas e heteroespecíficas

Foram observadas 84 larvas de *Sa. aurescens* em internódios de bambu controle, 14 larvas em internódios contendo uma larva de *Toxorhynchites* spp., 81 larvas em internódios contendo uma larva de *Wy. limai*, 178 larvas em internódios contendo apenas uma larva de *Sa. aurescens*, e 86 larvas em internódios contendo cinco larvas de *Sa. aurescens*. Assim, ao longo de 30 dias em que os internódios ficaram expostos em campo, foram observados, em média, 14,77 larvas dessa espécie por internódio de bambu.

Os diferentes tratamentos apresentaram diferenças significativas em relação ao número médio de larvas provenientes de oviposições de fêmeas de *Sa. aurescens* ($F = 22,24$; d.f. = 4; $p < 0,05$). Os internódios de bambus contendo uma larva de *Sa. aurescens* como tratamento apresentaram médias de larvas dessa mesma espécie superiores a todos os outros tratamentos (teste de Tukey $p < 0,05$), indicando uma preferência de fêmeas grávidas de *Sa. aurescens* em ovipositar em internódios que apresentem uma baixa densidades de larvas coespecíficas. Internódios que tinham como tratamento uma larva de *Toxorhynchites* spp., espécie predadora de outras larvas, apresentaram médias significativamente menores do que todos os outros tratamentos (teste de Tukey $p < 0,05$). Os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas em relação ao número de larvas de *Sa. aurescens* obtidas (teste de Tukey $p > 0,05$) (Figura 11).

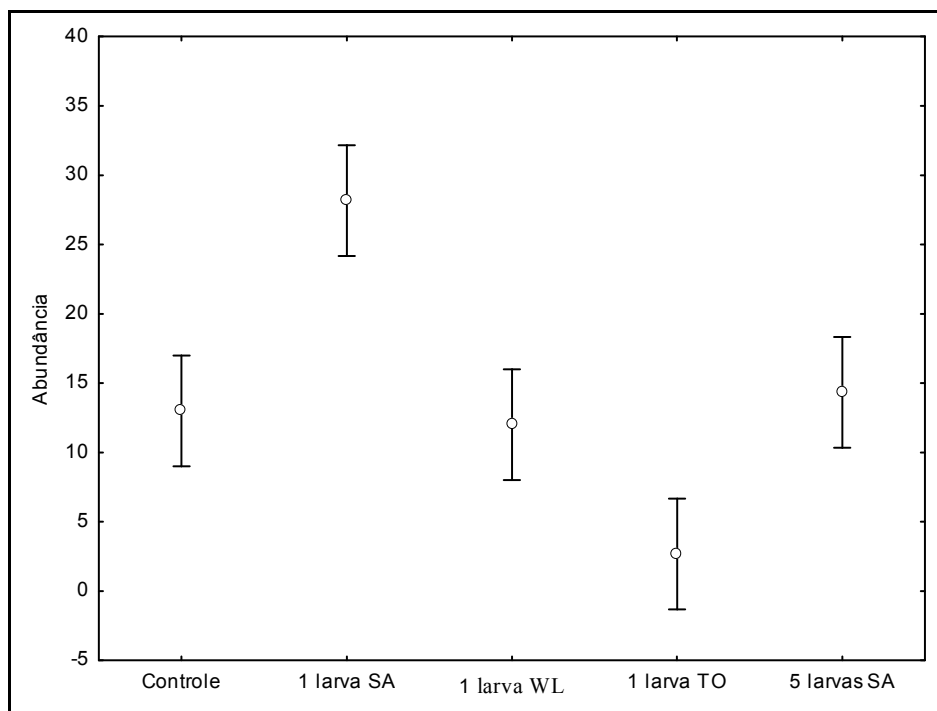


Figura 11. Abundância média de larvas de *Sabethes aurescens* obtidas em internódios de bambus com diferentes tratamentos. **SA:** *Sabethes aurescens*; **WL:** *Wyeomyia limai*; **TO:** *Toxorhynchites* spp. Os pontos indicam a média e as barras verticais indicam o intervalo de confiança de 95%.

Análise de compostos químicos presentes nos internódios de bambus

As amostras contendo água proveniente do interior dos internódios de bambus dos diferentes tipos de tratamentos foram analisadas pela técnica de purga e armadilha acoplada à cromatografia a gás (GC-PT). Dessa forma, o material proveniente de internódios controle, ou seja, naqueles que receberam apenas água destilada, foram identificados dois compostos químicos, o éter metil *tert*-amílico (2-metóxi-2-metilbutano) e o álcool isoamílico (3-metil-1-butanol) (Figura 12).

O conteúdo aquático proveniente de internódios que continham uma larva de *Sa. aurescens* apresentou apenas um composto químico, o dissulfeto

de dimetila ((metil dissulfanil)metano) (Figura 13). Já no material obtido a partir de internódios e bambus que apresentavam como tratamento cinco larvas de *Sa. aurescens*, foram identificados dois compostos, o dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil)metano) e metil etil cetona (2-butanona) (Figura 14).

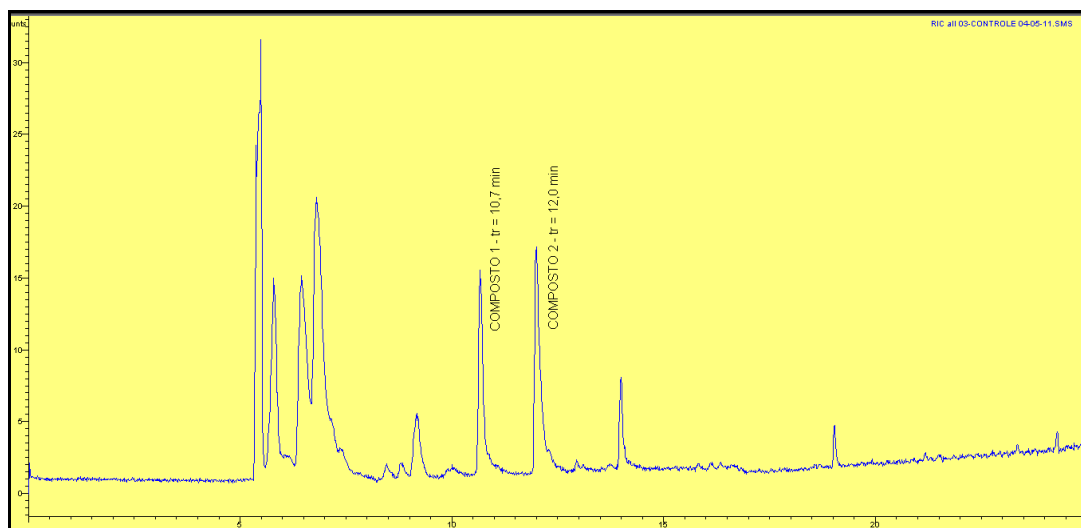


Figura 12. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: controle.

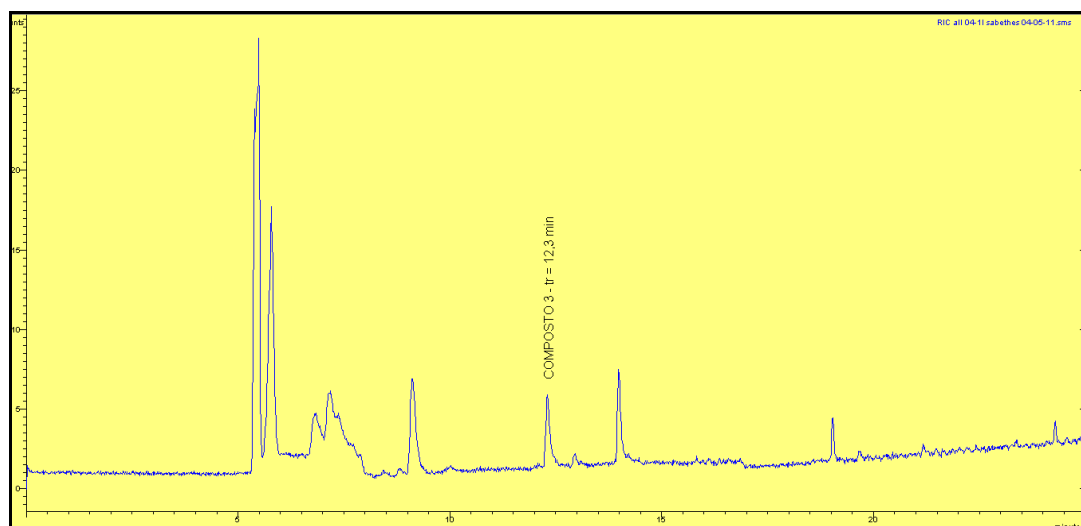


Figura 13. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: uma larva de *Sabethes aurescens*.

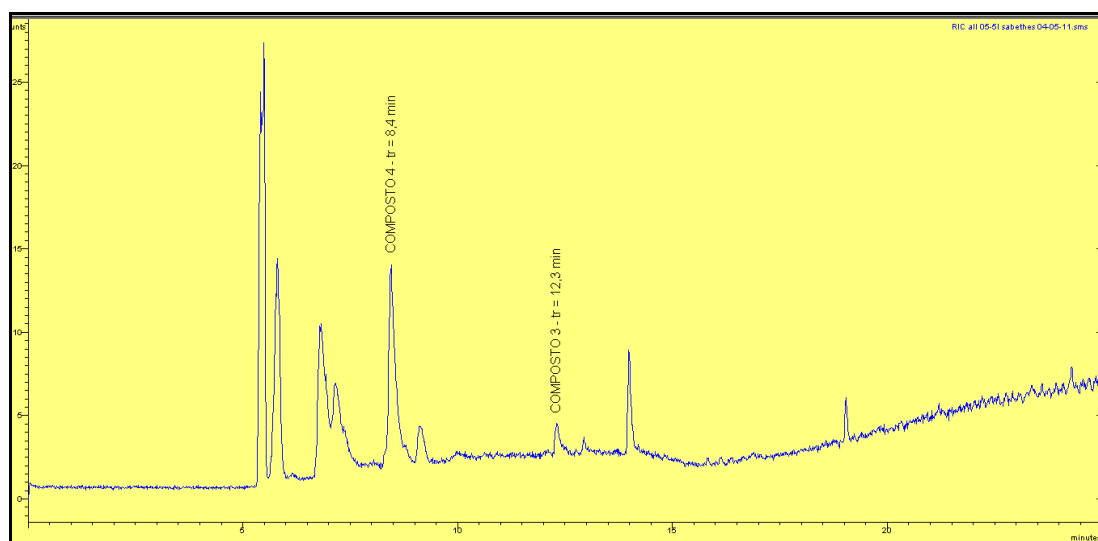


Figura 14. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: cinco larvas de *Sabethes aurescens*.

O conteúdo aquático obtido a partir de internódios de bambus contendo uma larva de *Wy. limai* apresentaram, também, dois compostos químicos, o metil etil cetona (2-butanona) e o 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno) (Figura 15). Já o material proveniente de internódios contendo uma larva de *Toxorhynchites* spp. foi observada a presença do composto 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno) (Figura 16).

As estruturas dos cinco compostos observados nos diferentes tratamentos larvários nos internódios de bambus estão representadas na figura 17.

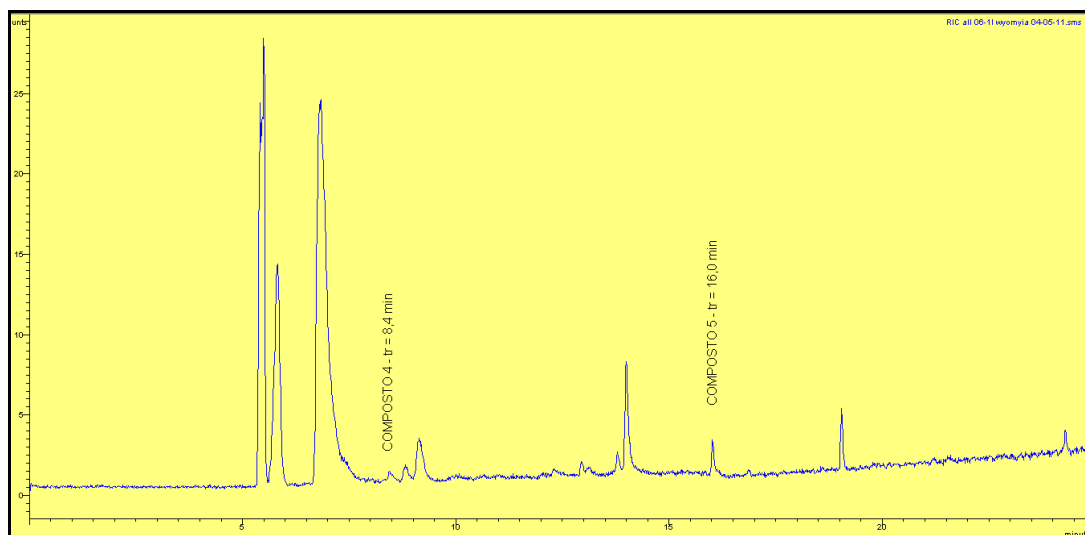


Figura 15. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: uma larva de *Wyeomyia limai*.

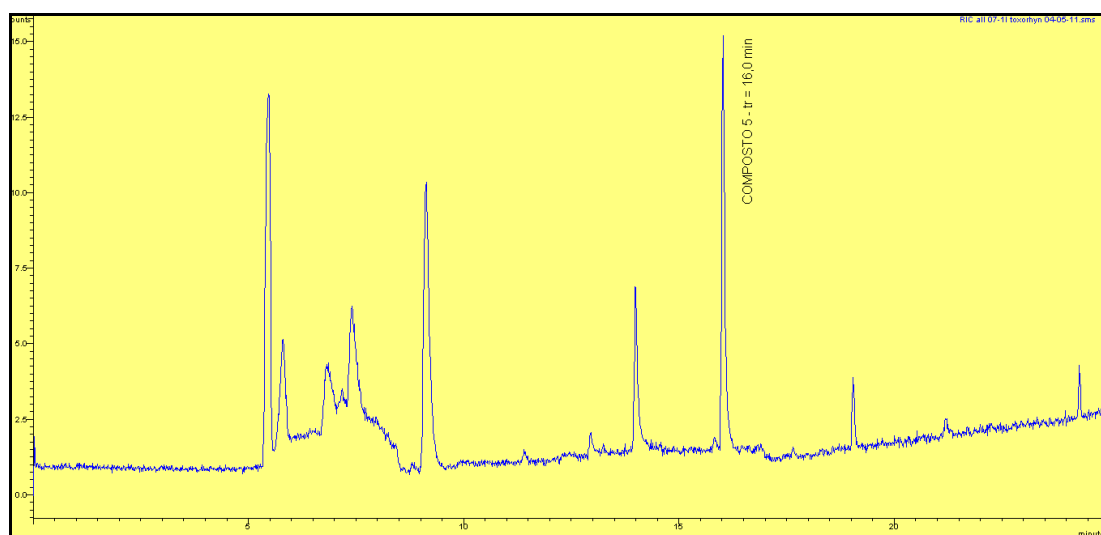


Figura 16. Cromatograma representativo com identificações de compostos químicos voláteis obtidos a partir de internódios de bambus com o tratamento: uma larva de *Toxorhynchites* spp.

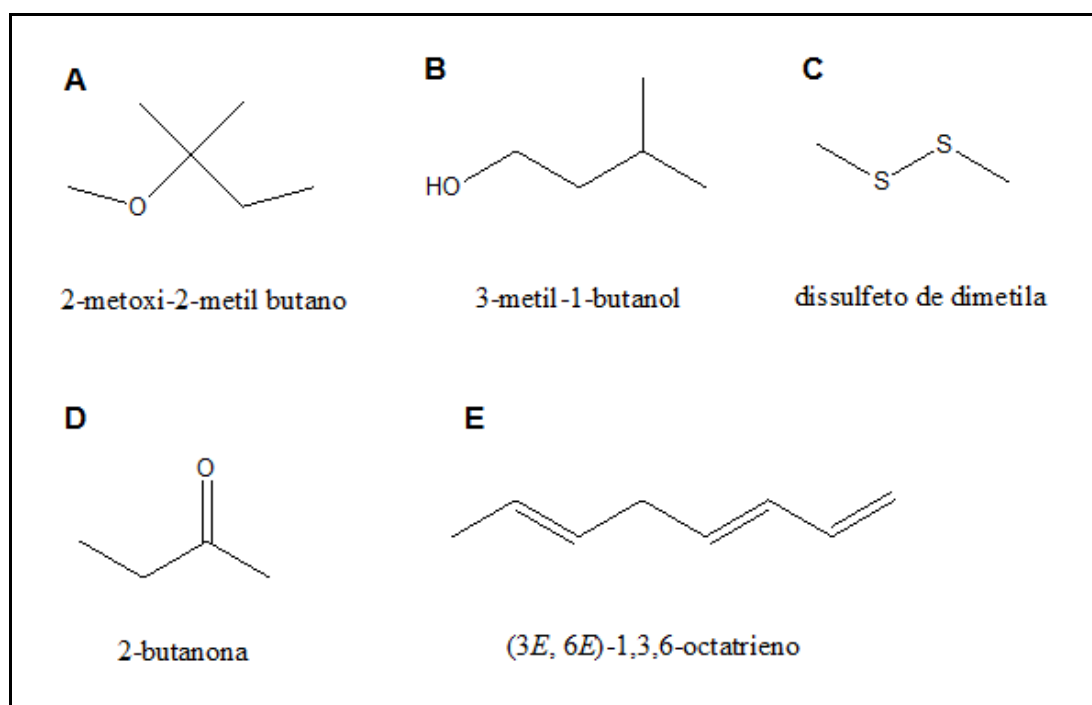


Figura 17. Representação das estruturas químicas dos compostos obtidos junto aos diferentes tratamentos realizados em internódios de bambus da Mata Atlântica. **A:** éter metil *tert*-amílico (2-metóxi-2-metilbutano). **B:** álcool isoamílico (3-metil-1-butanol). **C:** dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil) metano). **D:** metil etil cetona (2-butanona). **E:** 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno).

DISCUSSÃO

No presente estudo, a composição das bases da seqüência parcial do gene COI apresentou um maior percentual de A e T, e seguiu o padrão registrado para o DNA mitocondrial dos Insecta (Simon *et al.*, 1994). Cook *et al.* (2005) também observaram um maior percentual de bases A e T em estudos realizados com esse tipo de marcador molecular em espécies do gênero *Aedes*.

A população continental de Santo Amaro da Imperatriz (SA) apresentou uma predominância de indivíduos de *Sa. aurescens* com o haplótipo H6, sendo este considerado, através do método de agrupamento de vizinhos (Neighbor-Joining), o haplótipo ancestral. Já nas quatro populações insulares (LP, ML, PA, e UC), o haplótipo H6 apresentou uma baixa ocorrência, sendo que o H1 foi o haplótipo mais abundante. Segundo Crandall & Templeton (1993), um haplótipo que apresente elevadas freqüências e abundâncias em uma área pode ser considerado o mais antigo a se estabelecer.

A presença de 11 haplótipos únicos (*singletons*) nas quatro populações insulares de *Sa. aurescens* (LP, ML, PA, e UC) pode estar relacionada com mutações recentes que tenham se fixado, e que não foram dispersas através das fronteiras dos locais estudados (Crandall & Templeton, 1993). *Sabethes aurescens*, assim como outras espécies deste gênero, apresenta comportamento silvestre, habitando exclusivamente áreas de matas (Dorvillé, 1996; Zequi & Lopes, 2001). Desta forma, com a intensa fragmentação das áreas de mata na Ilha de Santa Catarina devido ao processo de urbanização

(Caruso, 1990), é possível que as populações ou indivíduos desta espécie tenham sua mobilidade e dispersão limitadas.

Considerando a similaridade (coeficiente de Bray-Curtis) das cinco populações estudadas quanto à presença ou ausência haplotípica, foi possível observar que a população continental SA apresentou a menor similaridade com as demais (15% de similaridade). Esta baixa similaridade pode estar associada à existência de barreiras geográficas consistentes entre estas populações, como a existência de uma extensa faixa de água que separa a área continental da Ilha de Santa Catarina. A presença de barreiras geográficas formadas por extensas áreas de água que separam as ilhas foi apontada como fator determinante nas diferenças haplotípicas registradas para *Apis mellifera* Linnaeus, 1758 nas Ilhas Canárias (Rúa *et al.*, 2001).

Os valores da diversidade haplotípica ($H_d = 0,799$) e da diversidade nucleotídica ($P_i = 0,00339$) observadas para a população de *Sa. aurescens*, como um todo, foram menores do que aqueles observados para *Ae. scapularis* Rondani, 1848 capturados em fragmentos florestais localizados em meio ao centro urbano e na região rural de da cidade de São Paulo-SP ($H_d = 0,867$ e $P_i = 0,006$) (Devicari, 2010). Para as populações de *Ae. aegypti* capturadas em cidades próximas ao município de Manaus-AM, também foram registrados valores superiores de $H_d = 0,740$ e de $P_i = 0,006$ (Scarpassa *et al.*, 2008).

Quando analisadas separadamente, as populações provenientes de matas inseridas em áreas legalmente protegidas como a do Parque Municipal da Lagoa do Peri (LP) e a da Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC) apresentam maiores valores de diversidade haplotípica e nucleotídica do que aquelas populações provenientes de fragmentos florestais menores e

inseridos no meio de áreas urbanas muito populosas como o fragmento do Morro da Lagoa (ML). Segundo Grant & Bowen (1998), padrões de baixa diversidade genética como o observado na população ML, podem indicar recente gargalo de garrafa ou evento fundador com uma ou poucas linhagens mitocondriais.

Os testes de neutralidade realizados para as populações de *Sa. aurescens* não foram significativos ($p < 0,05$), o que sugere que o polimorfismo detectado nas mesmas está de acordo com o modelo neutro. Assim, indicam que as populações desse mosquito não se encontram em expansão, apesar da presença de haplótipos raros (únicos) em algumas áreas de coleta (Kimura, 1968; Tajima, 1989; Fu, 1997). Scarpassa *et al.* (2008) observaram em algumas populações urbanas de *Ae. aegypti* valores significativos para os testes de neutralidade, o que indicou que os polimorfismos moleculares não poderiam ser explicados pelo modelo neutro.

Através da análise de variância molecular (AMOVA), onde as populações analisadas foram consideradas como um único grupo, foi possível observar que a maioria das variações ocorreu dentro das populações. Este resultado sugere que as populações de *Sa. aurescens* dos fragmentos florestais da região metropolitana da cidade de Florianópolis não se encontram geneticamente estruturadas. Provavelmente, estes resultados da AMOVA foram fortemente influenciados pela elevada homogeneidade genética observada entre as populações do ML e UC ($F_{st} = 0,008$ e $N_m = 59,953$).

A ausência de estruturação genética observada nas populações pode ser consequência da existência de conexões entre os fragmentos florestais onde estas estavam inseridas, permitindo um constante fluxo gênico. As

populações ML e UC, por exemplo, foram capturadas em áreas próximas (apenas 10km de distância) e que estavam ligadas por corredores de mata formados por florestas ainda preservadas no topo dos morros da Ilha de Santa Catarina. Outra explicação para este padrão poderia ser, pela proximidade dos pontos de coleta, que a metodologia utilizada não apresente poder discriminatório suficiente para analisar as diferenças populacionais de *Sa. aurescens* (Müller *et al.*, 2010).

Segundo Wright (1978), os valores de *Fst* podem ser classificados como tendo: baixa divergência genética ($Fst = 0 - 0,05$), moderada divergência genética ($Fst = 0,05 - 0,15$), elevada divergência genética ($Fst = 0,15 - 0,25$), e divergência genética muito elevada ($Fst > 0,25$). Desta forma, o valor de *Fst* obtido entre ML e UC (0,008), indica uma baixa divergência genética entre estas. Os valores de *Fst* obtidos entre LP e PA (0,177), entre LP e SA (0,167), entre PA e UC (0,186), e entre SA e UC (0,190) indicam que estas populações apresentam uma elevada divergência genética. Já os resultados de *Fst* obtidos entre ML e PA (0,422), entre ML e SA (0,601), e entre PA e SA (0,366) remetem a uma divergência genética muito elevada.

O teste de Mantel para indicar a correlação entre a distância geográfica com a distância genética não foi significativo, o que indica que o fluxo gênico não depende da distância geográfica. Scarpassa *et al.* (2008) observaram uma elevada correlação entre as distâncias genética e geográfica para as populações de *Ae. aegypti* de cidades da região amazônica. Já Bosio *et al.* (2005), para a mesma espécie, mas através do gene mitocondrial ND4, observaram na Tailândia que as populações não estavam geneticamente isoladas devido a distância geográfica.

O dendrograma das populações de *Sa. aurescens* (Figura 10) não indicou a formação de agrupamentos evidentes. Este resultado sugere que as populações de *Sa. aurescens* estudadas podem estar separadas por um período de tempo insuficiente para que fossem suportadas a formação de grupos ou linhagens evidentes de haplótipos (Moritz *et al.*, 1987; Scarpassa & Conn, 2006).

Em relação à seleção do habitat (internódio de bambu) para a oviposição de *Sa. aurescens*, foi possível observar um direcionamento dessa atividade de acordo com a presença e abundância de larvas coespecíficas e heteroespecíficas. Em criadouros fitotelmatas foram observadas que várias espécies direcionam sua oviposição em busca de condições propícias para o desenvolvimento de sua prole. Isso foi registrado para *Ae. triseriatus* (Say, 1823) em ocos de árvores (Edgerly *et al.*, 1998), para *Wy. smithii* Coquillett, 1901 em plantas carnívoras que acumulam água em suas flores (Hoekman *et al.*, 2007), e para *Ae. albopictus* (Skuse, 1894) em bromélias (Lounibos *et al.*, 2003).

Segundo Lozovei (1998), que estudou a comunidade de culicídeos que se desenvolvem no interior de internódios de bambus perfurados lateralmente em áreas de mata do estado do Paraná, o sucesso do desenvolvimento das larvas que habitam esse tipo de criadouro está diretamente associado à possibilidade destas sofrerem pouca influência de competição por recursos e espaço, e de predação.

Dos cinco diferentes tipos de tratamentos dispostos em campo para a oviposição de fêmeas de *Sa. aurescens*, tratamentos que continham uma larva desta espécie apresentaram quantidades significativamente superiores de

oviposições. Cabe destacar que internódios que continham larvas de *Sa. aurescens* em quantidades maiores (cinco larvas), diferentemente daqueles com apenas uma larva, não atraíram as oviposições das fêmeas adultas. Isso indica que a densidade populacional coespecífica pode ser um fator relevante para a escolha do criadouro por parte dessa espécie.

Baixas densidades de larvas em um criadouro podem indicar que este apresenta recursos disponíveis para o desenvolvimento de uma futura prole, e que esta não sofrerá com uma elevada pressão competitiva. Segundo Agnew *et al.* (2000), altas densidades de larvas coespecíficas em um mesmo criadouro podem influenciar negativamente no desempenho desses indivíduos na fase adulta. Eles observaram que larvas de *Cx. pipiens quinquefasciatus* Say, 1823 que se desenvolviam em criadouros com elevada densidade de larvas dessa mesma espécie empupavam mais tarde, e originavam adultos menores quando comparadas com larvas que se desenvolviam em criadouros livres de competição ou com baixas densidades de larvas.

Também foi possível observar que as fêmeas de *Sa. aurescens* evitam ovipositar em internódios de bambus que apresentem larvas predadoras de *Toxorhynchites* spp. desenvolvendo-se no conteúdo aquático. No Brasil, em internódios de bambus perfurados lateralmente foram registradas três espécies de *Toxorhynchites*, *Tx. bambusicola* (Lutz & Neiva, 1913), *Tx. pusillus* (Costa Lima, 1931), e *Tx. theobaldi* (Dyar & Knab, 1906), sendo que todas podem se alimentar de outras larvas de Culicidae, além de larvas de Chironimidae e Sirphyidae que habitam no seu criadouro (Kovac & Streit, 1996; Lozovei, 1998; Collins & Blackwell, 2000; Lozovei, 2001; Zequi & Lopes, 2001; Müller, 2008).

Segundo Lozovei (2001), a predação é o principal fator regulatório das populações de culicídeos que se desenvolvem em internódios de bambus.

Assim, este comportamento em que as fêmeas grávidas evitam colocar seus ovos em criadouros que contenham predadores já foi registrado para outras espécies de culicídeos, como para *Culiseta longiareolata* (Macquart, 1838), que se desenvolve em poças d'água de caráter temporário e é predada por um hemíptero aquático da espécie *Notonecta maculata* Fabricius, 1794 (Arav & Blaustein, 2006; Silberbush & Blaustein, 2011).

O comportamento de predação afeta negativamente as presas de duas formas, a primeira seria pela morte destas através do ato predatório, e a segunda seria pela diminuição da capacidade de sobreviver e se reproduzir (*fitness*) das presas que atingem a fase adulta devido à mudança de comportamento que estas realizaram para evitar a predação durante o seu desenvolvimento. Esse comportamento anti-predatório, pode levar as larvas de Culicidae a se desenvolverem mais rapidamente, ou mudarem seu comportamento de forrageamento, o que implica na emergência de adultos com tamanho corporal menor e com menor capacidade reprodutiva (Stav *et al.*, 1999; Juliano & Gravel, 2002; Kesavaraju & Juliano, 2004; Alto *et al.*, 2005).

Para detectar as condições do potencial criadouro para sua prole, as fêmeas de Culicidae grávidas detectam sinais químicos que fornecem as informações sobre este criadouro. No presente estudo, foram detectados cinco compostos químicos a partir do conteúdo aquático dos internódios de bambus que continham uma e cinco larvas de *Sa. aurescens*, uma larva de *Toxorhynchites* spp., uma larva de *Wy. limai*, e internódios controle (sem a presença de larvas).

Em internódios controle, ou seja, que continham apenas água no seu interior foram detectados o éter metil *tert*-amílico (2-metóxi-2-metilbutano) e o álcool isoamílico (3-metil-1-butanol). Em internódios com uma larva de *Sa. aurescens* foi detectado o dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil) metano). Em internódios com cinco larvas de *Sa. aurescens* foram observados o dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil)metano) e o metil etil cetona (2-butanona). Em internódios com uma larva de *Wy. limai* foi detectado o metil etil cetona (2-butanona) e o 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno), e em internódios que apresentavam uma larva de *Toxorhynchites* spp. foi observado o 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno). Segundo Bentley & Day (1989) e Serpa *et al.* (2008) esses compostos químicos presentes na água em que as larvas estão se desenvolvendo se originam a partir dos produtos excretados ou liberados através de seus processos metabólicos.

Apesar do presente estudo não ter realizado uma análise quantitativa dos compostos químicos nos diferentes tipos de internódios com seus conteúdos, é possível destacar o composto dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil) metano), que foi encontrado em internódios com tratamentos (com uma larva de *Sa. aurescens*) que atraíram significativamente as oviposições das fêmeas de *Sa. aurescens*. Esse composto, dessa forma, pode apresentar um potencial como atrativo para as oviposições dessa espécie. O dissulfeto de dimetila é um composto volátil que é encontrado no mel produzido por abelhas que forrageiam em flores de eucalipto (Maria & Moreira, 2003) e, em associação com o sangue, faz com que fêmeas adultas de Culicidae sejam atraídas até o hospedeiro vertebrado que o produz (Allan *et al.*, 2005). Esse

composto também foi responsável por atrair fêmeas de *Ae. albopictus* para a oviposição (Trexler *et al.*, 2003).

Já o 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno), encontrado em internódios que continham larvas predadoras de *Toxorhynchites* spp., e que repeliram as oviposições das fêmeas de *Sa. aurescens*, pode apresentar um potencial como composto repelente para as oviposições dessa espécie. Para *Toxorhynchites* spp. não existem estudos que descrevam os compostos químicos emitidos por suas larvas. Além disso, o 3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno) nunca foi registrado como um dos compostos químicos produzidos pelos Culicidae. Registros de compostos químicos produzidos por larvas de mosquitos classificadas como semioquímicos foram obtidos a partir de espécies com importância médica comprovada, como o *Ae. aegypti*, *An. gambiae*, e *Cx. quinquefasciatus* (Bentley & Day, 1989; Navarro-Silva *et al.*, 2009).

Apesar de estes compostos terem sido obtidos a partir de combinações (lavas + água) que atraíram e repeliram as oviposições de *Sa. aurescens*, é necessário que mais testes sejam realizados para comprovar a eficácia dos mesmos como semioquímicos. Além disso, é necessário estabelecer quais concentrações das substâncias têm ação efetiva sobre o comportamento das fêmeas desta espécie.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir das análises realizadas com o gene COI nas cinco populações de *Sabethes aurescens* de fragmentos florestais da região metropolitana de Florianópolis-SC permitem as seguintes conclusões:

1. Foram observados 16 haplótipos nas populações estudadas, sendo que a população continental de Santo Amaro da Imperatriz (SA) foi caracterizada como a mais distinta no que se refere à presença ou ausência dos diferentes haplótipos.
2. Áreas de mata legalmente protegidas e, conseqüentemente, mais preservadas, como o Parque Municipal da Lagoa do Peri (LP) e a Unidade de Conservação Ambiental Desterro (UC), apresentaram populações desta espécie com maiores índices de diversidade genética.
3. As populações estudadas não se encontram em expansão nos fragmentos florestais analisados, sendo que, apesar do processo de fragmentação do seu habitat, algumas populações ainda apresentam uma homogeneidade genética.
4. O fluxo gênico entre as populações não está correlacionado com a distância geográfica entre elas.

Os resultados obtidos a partir dos testes de preferências de locais de oviposição de *Sabethes aurescens*, e das análises dos compostos químicos presentes nestes, permitem que sejam elaboradas as seguintes conclusões:

1. As fêmeas são atraídas para ovipositar em internódios de bambus que apresentem baixas densidades de larvas coespecíficas, e evitam ovipositar em locais que apresentem larvas predadoras de *Toxorhynchites* spp.
2. O composto químico dissulfeto de dimetila ((metil dissulfanil) metano) apresentou um potencial como atrativo, e o 1,3,6-octatrieno ((3-*E*,6-*E*)-1,3,6-octatrieno) apresentou um potencial como repelente para as oviposições de *Sa. aurescens* nos internódios de bambus.

REFERÊNCIAS

- Agnew, P.; Haussy, C. & Michalakis, Y. 2000. Effects of Density and Larval Competition on Selected Life History Traits of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology** **37**: 732-735.
- Allan, S. A.; Bernier, U. R. & Kline, D. L. 2006. Attraction of mosquitoes to volatiles associated with blood. **Journal of Vector Ecology** **31**: 71-78.
- Almeida, L. M.; Ribeiro-Costa, C. S. & Marinoni, L. 2003. **Manual de Coleta, Conservação, Montagem e Identificação de Insetos**. Holos Editora, Ribeirão Preto, 78p.
- Alto, B. W.; Griswold, M. W. & Lounibos, L. P. 2005. Habitat complexity and sex-dependent predation of mosquito larvae in containers. **Oecologia** **146**: 300-310.
- Arav, D. & Blaustein, L. 2006. Effects of Pool Depth and Risk of Predation on Oviposition Habitat Selection by Temporary Pool Dipterans. **Journal of Medical Entomology** **43**: 493-497.
- Avise, J. C.; Helfman, G. S.; Saunders, N. C. & Hales, L. S. 1986. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: Population genetic consequences of an unusual life history pattern. **Proceedings of the National Academy of Sciences** **83**: 4350-4354.
- Bellar, T. A.; Lichtenberg, J. J. & Kroner, R. C. 1974. The occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters. **Journal Water Works Association** **66**: 703-706.

- Bentley, M. D. & Day, J. F. 1989. Chemical Ecology and Behavioral Aspects of Mosquito Oviposition. **Annual Review of Entomology** **34**: 401-421.
- Blaustein, L.; Kiflawi, M.; Eitam, A.; Mangel, M. & Cohen, J. E. 2004. Oviposition habitat selection in response to risk of predation in temporary pools: mode of detection and consistency across experimental venue. **Oecologia** **138**: 300-305.
- Bonnet, A. & Queiroz, M. H. 2006. Estratificação vertical de bromélias epifíticas em diferentes estádios sucessionais da Floresta Ombrófila Densa, Ilha de Santa Catarina, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **29**: 217-228.
- Bosio, C. F.; Harrington, L. C.; Jones, J. W.; Sithiprasasna, R.; Norris, D. E. & Scott, T. W. 2005. Genetic Structure of *Aedes aegypti* Populations in Thailand Using Mitochondrial DNA. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **72**: 434-442.
- Cardoso, J. C.; Corseuil, E. & Barata, J. M. S. 2005. Culicinae (Diptera, Culicidae) ocorrentes no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia** **49**: 275-287.
- Caruso, M. M. L. 1990. **O desmatamento na Ilha de Santa Catarina de 1500 aos dias atuais**. Editora da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 158p.
- Chadee, D. D. 1990. Seasonal Abundance and Diel Landing Periodicity of *Sabethes chloropterus* (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies. **Journal of Medical Entomology** **27**: 1041-1044.

- Cheung, W. Y.; Hubert, N. & Landry, B. S. 1993. A simple and rapid DNA microextraction method for plant, animal and insect suitable for RAPD and other PCR analyses. **PCR Methods and Applications** **3**: 69-70.
- Clement, M.; Posada, D.; Crandal, K. A. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. **Molecular Ecology** **9**: 1657-1660.
- Collins, L. E. & Blackwell, A. 2000. Colour cues for oviposition behavior in *Toxorhynchites moctezuma* and *Toxorhynchites amboinensis* mosquitoes. **Journal of Vector Entomology** **25**: 127-135.
- Colton, Y. M.; Chadee, D. D. & Severson, D. W. 2003. Natural skip oviposition of the mosquito *Aedes aegypti* indicated by codominant genetic markers. **Medical and Veterinary Entomology** **17**: 195-204.
- Cook, S.; Diallo, M.; Sall, A. A.; Cooper, A. & Holmes, E. C. 2005. Mitochondrial Markers for Molecular Identification of *Aedes* Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Involved in Transmission of Arboviral Disease in West Africa. **Journal of Medical Entomology** **42**: 19-28.
- Costa Lima, A. 1931. Sobre as espécies dos gêneros Sabethes e Sabethoides (Diptera: Culicidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **25**: 51-68.
- Crandall, K. A. & Templeton, A. R. 1993. Empirical Tests of Some Predictions From Coalescent Theory With Applications to Intraspecific Phylogeny Reconstruction. **Genetics** **134**: 959-969.
- Cywinska, A.; Hunter, F. F. & Hebert, P. D. N. 2006. Identifying Canadian mosquito species through DNA barcodes. **Medical and Veterinary Entomology** **20**: 413-424.
- Dégallier, N.; Sá Filho, G. C.; Monteiro, H. A. O.; Castro, F. C.; Silva, O. V.; Brandão, R. C. F.; Moyses, M. & Rosa, A. P. A. T. 1998. Release-

- Recapture Experiments with Canopy Mosquitoes in the Genera *Haemagogus* and *Sabethes* (Diptera: Culicidae) in Brazilian Amazonia. **Journal of Medical Entomology** **35**: 931-936.
- Devicari, M. 2010. **Caracterização populacional de *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae): aspectos moleculares, morfométricos e morfológicos**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 64p.
- Dodge, H. R. 1966. Studies on Mosquito Larvae II. The First-stage Larvae of North American Culicidae and of World Anophelinae. **The Canadian Entomologist** **98**: 337-393.
- Dorvillé, L. F. M. 1996. Mosquitoes as Bioindicators of Forest Degradation In Southeaestern Brazil, a Statistical Evaluation of Published Data in the Literature. **Studies on Neotropical Fauna and Environmental** **31**: 68-78.
- Edgerly, J. S.; McFarland, M.; Morgan, P. & Livdahl, T. 1998. A seasonal shift in egg-laying behavior in response to cues of future competition in a treehole mosquito. **Journal of Animal Ecology** **67**: 805-818.
- Excoffier, L.; Smouse, P. E.; Quattro, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to humam mitochondrial DNA restriction data. **Genetics** **131**: 479-491.
- Excoffier, L.; Laval, G. & Schneider, S. 2005. Arlequin ver. 3.1: an integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online** **1**: 47-50.
- Forattini, O. P.; Rabello, E. X. & Pattoli, D. 1960. Notas sobre Culicidae (Diptera). 3 – As larvas e pupas de *Wyeomyia* (W.) *limai* Lane e Cerqueira, 1942 e de *W. (D.) personata* (Lutz, 1904). **Arquivos da Faculdade de Higiene e Saúde Pública da Universidade de São Paulo** **14**: 95-109.

- Forattini, O. P. 1965. **Entomologia Médica**, vol. 3, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 416p.
- Forattini, O. P. 2002. **Culicidologia Médica**, vol. 2, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 860p.
- França, G. S. 2005. **Seqüenciamento e análise da região ITS2 de *Anopheles (Kerteszia) cruzii* Dyar & Knab 1908 (Diptera: Culicidae) provenientes da população da Floresta Estadual do Palmito – Paranaguá – PR**. Monografia de Bacharelado em Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná. 37p.
- Freitas, J. D.; Cavalcante, S. K. M.; Santos, E. D.; Antunes, L. O.; Freitas, A. J. D.; Freitas, M. L.; Goulard, H. F. & Santana, A. E. G. 2011. Padronização da Síntese dos Principais Constituintes Feromonais de Insetos dos Gêneros *Metamasius* e *Rhynchophorus*. **Holos** 27: 15-27.
- Fu, Y. X. & Li, W. H. 1993. Statistical tests of neutrality of mutations. **Genetics** 133: 693-709.
- Fu, Y. X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics** 147: 915-925.
- Gama, R. A.; Silva, E. M.; Silva, I. M.; Resende, M. C. & Eiras, A. E. 2007. Evaluation of the Sticky MosquiTRAPTM for Detecting *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) during the Dry Season in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Neotropical Entomology** 36: 294-302.
- Ganesan, K.; Mendki, M. J.; Suryanarayana, M. V. S.; Prakash, S. & Malhotra, R. C. 2006. Studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) ovipositional responses to newly identified semiochemicals from conspecific eggs. **Australian Journal of Entomology** 45: 75-80.

- Gomes, A. C.; Torres, M. A. N.; Paula, M. B.; Fernandes, A.; Marassá, A. M.; Consales, C. A. & Fonseca, D. F. 2010. Ecologia de *Haemagogus* e *Sabethes* (Diptera: Culicidae) em áreas epizoóticas do vírus da febre amarela, Rio Grande do Sul, Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde** **19**: 101-113.
- Gorrochotegui-Escalante, N.; Munoz, M. L.; Fernandez-Salas, I.; Beaty, B. J. & Black IV, W. C. 2000. Genetic Isolation by Distance Among *Aedes aegypti* Populations Along the Northeastern Coast of Mexico. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene** **62**: 200-209.
- Grant, W. S. & Bowen, B. W. 1998. Shallow Population Histories in Deep Evolutionary Lineages of Marine Fishes: Insights From Sardines and Anchovies and Lessons for Conservation. **The Journal of Heredity** **89**: 415-426.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series** **41**: 95-98.
- Harbach, R. E. 1991. A New Subgenus of the Genus *Sabethes* (Diptera: Culicidae). **Mosquito Systematics** **23**: 1-9.
- Harbach, R. E. 1994. The subgenus *Sabethinus* of *Sabethes* (Diptera: Culicidae). **Systematic Entomology** **19**: 207-234.
- Harbach, R. E. & Howard, T. M. 2002. *Sabethes (Peytonulus) paradoxus*, a new species of Sabethini (Diptera: Culicidae) from Panama. **Proceedings of the Entomological Society of Washington** **104**: 363-372.
- Hayes, C. G.; Dutary, B. E.; Reeves, W. C.; Adames, A. J. & Galindo, P. 1991. Experimental Studies to Determine the Susceptibility to Infection with St.

- Louis Encephalites Virus of Five Species of Panamanian Mosquitoes. **Journal of the American Mosquito Control Association** 7: 584-587.
- Hoekman, D.; Terhorst, C.; Bauer, A.; Braun, S.; Gignac, P.; Hopkins, R.; Joshi, S.; Laskis, K.; Sanscrainte, J. T. & Miller, T. E. 2007. Oviposition decreased in response to enriched water: a field study of the pitcher-plant mosquito, *Wyeomyia smithii*. **Ecological Entomology** 32: 92-96.
- Juliano, S. A. & Gravel, M. E. 2002. Predation and the evolution of prey behavior: an experiment with tree hole mosquitoes. **Behavioral Ecology** 13: 301-311.
- Kaufman, M. G.; Walker, E. D.; Smith, T. W.; Merritt, R. W. & Klug, M. J. 1999. Effects of Larval Mosquitoes (*Aedes triseriatus*) and Stemflow on Microbial Community Dynamics in Container Habitats. **Applied and Environmental Microbiology** 65: 2661-2673.
- Kesavaraju, B. & Juliano, S. A. 2004. Differential Behavioral Responses to Water-Borne Cues to Predation in Two Container-Dwelling Mosquitoes. **Annals of the Entomological Society of America** 97: 194-201.
- Kiflawi, M.; Blaustein, L. & Mangel, M. 2003. Oviposition habitat selection by the mosquito *Culiseta longiareolata* in response to risk of predation and conspecific larval density. **Ecological Entomology** 28: 168-173.
- Kimura, M. 1968. Evolutionary rate at the molecular level. **Nature** 217: 624-626.
- Kovac, D. & Streit, B. 1996. The arthropod community of bamboo internodes in Peninsular Malaysia: microzonation and trophic structure. **Tropical Rainforest Research** 74: 85-99.
- Krebs, C. J. 1999. **Ecological Methodology**, Editora Addison Wesley Longman, California. 620p.

- Kumar, S.; Tamura, K. & Nei, M. 2004. MEGA 3: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment. **Briefings Bioinformatics** 5:150-163.
- Lane, J. 1953. **Neotropical Culicidae**, vol. 1. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 548p.
- Lounibos, L. P.; O'Meara, G. F.; Nishimura, N. & Escher, R. L. 2003. Interactions with native mosquito larvae regulate the production of *Aedes albopictus* from bromeliads in Florida. **Ecological Entomology** 28: 551-558.
- Lozovei, A. L. 1998. Mosquitos Dendrícolas (Diptera, Culicidae) em Internódios de Taquara da Floresta Atlântica, Serra do Mar e Primeiro Planalto, Paraná, Brasil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 41: 501-508.
- Lozovei, A. L. 2001. Microhabitats de mosquitos (Diptera, Culicidae) em internódios de taquera na Mata Atlântica, Paraná, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia** 90: 3-13.
- Lutz, A. 1905. Novas espécies de mosquitos do Brasil. **Imprensa Médica** 13:1-68.
- Maciel, C. S. 1962. Lista de Culicíneos do Estado de Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais** 14: 465-494.
- Mantel, N. 1967. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research** 27: 209-220.
- Marassá, A. M.; Paula, M. B.; Gomes, A. C. & Consales, C. A. 2009. Biotin-Avidin Sandwich ELISA With Specific Human Isotypes IgG1 and IgG4 For Culicidae Mosquito Blood Meal Identification From An Epizootic Yellow

Fever Area in Brazil. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases** **15**: 696- 706.

Marcondes, C. B.; Fernandes, A.; Paterno, U.; Müller, G. A.; Pinho, L. C. & Struffaldi, D. V. 2003. New records of mosquitoes from the southern Brazilian States of Santa Catarina and Rio Grande do Sul, with 18 species new for the States (Diptera: Culicidae). **Zootaxa** **347**: 1-6.

Marcondes, C. B.; Fernandes, A. & Müller, G. A. 2006. Mosquitoes (Diptera: Culicidae) near a reservoir in the Western part of the Brazilian State of Santa Catarina. **Biota Neotropica** **6**:
<http://www.biotaneotropica.org.br/v6n3/pt/abstract?inventory+bn02606032006>.

Marcondes, C. B. & Mafra, H. 2003. Nova técnica para o estudo da fauna de mosquitos (Diptera: Culicidae) em internódios de bambus, com resultados preliminares. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **36**: 763-764.

Maria, C. A. B. & Moreira, R. F. A. 2003. Compostos Voláteis em Méis Florais. **Química Nova** **26**: 90-96.

Matioli, S. R. 2001. **Biologia Molecular e Evolução**. 1ª edição. Editora Holos, Ribeirão Preto - SP. 202p.

Mendki, M. J.; Ganesan, K.; Prakash, S.; Suryanarayana, M. V. S.; Malhotra, R. C.; Rao, K. M. & Vaidyanathaswamy, R. 2000. Heneicosane: An oviposition-attractant pheromone of larval origin in *Aedes aegypti* mosquito. **Current Science** **78**: 1295–1296.

- Moritz, C.; Dowling, T. E. & Brown, W. M. 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematic. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics** 18: 269-292.
- Müller, G. A. 2008. **Culicídeos associados a internódios de bambu, com ênfase em *Sabethes aurescens* (Diptera: Culicidae), na Mata Atlântica, Santa Catarina, Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná. 64p.
- Müller, G. A.; Navarro-Silva, M. A. & Marcondes, C. B. 2009. Developmental time of immature forms of *Sabethes aurescens* Lutz (Diptera, Culicidae) from artificially perforated bamboo in the rain forest of southern Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia** 53: 649-652.
- Müller, G. A.; Marcondes, C. B. & Navarro-Silva, M. A. 2010. Aplicação de marcadores microssatélites para o estudo de Culicidae (Diptera): revisão com especial referência a *Haemagogus*. **Boletín de Malariología y Salud Ambiental** 50: 175-186.
- Müller, G. A.; Name, F. T.; Pacheco, F. C. L. & Marcondes, C. B. 2010. Analysis of an alternative method for the study of bromeliad-associated fauna in plants with different foliar organization. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 82: 903-906.
- Munstermann, L. E. & Marchi, A. 1986. Cytogenetic and isozyme profile of *Sabethes cyaneus*. **The Journal of Heredity** 77: 241-248.
- Navarro, J. C. & Machado-Allison, C. 1995. Aspectos Ecologicos de *Sabethes chloropterus* (Humboldt) (Diptera: Culicidae) em um Bosque Humedo Del Edo. Miranda, Venezuela. **Boletin Entomological Venezuelano** 10: 91-104.

- Navarro-Silva, M. A.; Marques, F. A. & Duque L, J. E. 2009. Review of semiochemicals that mediate the oviposition of mosquitoes: a possible sustainable tool for the control and monitoring of Culicidae. **Revista Brasileira de Entomologia** **53**: 1-6.
- Oliveira, C. M.; Fungaro, M. H. P.; Camargo, L. E. A. & Lopes, J. R. S. 2002. Análise Comparativa da Estabilidade do DNA de *Dalbulus maidis* (DeLong & Wolcott) (Hemiptera: Cicadellidae) sob Diferentes Métodos de Preservação Para Uso em RAPD-PCR. **Neotropical Entomology** **31**: 225-231.
- Paterno, U. & Marcondes, C. B. 2004. Mosquitos antropofílicos de atividade matutina em Mata Atlântica, Florianópolis, SC. **Revista de Saúde Pública** **38**: 133-135.
- Pedro, P. M.; Sallum, M. A. & Butlin, R. K. 2008. Forest-obligate *Sabethes* mosquitoes suggest palaeoecological perturbations. **Heredity** **101**: 186-195.
- Rai, K. S. 1999. Genetics of mosquitoes. **Journal of Genetics** **78**: 163-169.
- Rozas, J.; Sánchez-Delbarrio, J. C.; Messeguer, X.; Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. **Bioinformatics** **19**: 2496-2497.
- Rúa, P. L.; Galián, J.; Serrano, J. & Moritz, R. F. A. 2001. Genetic structure and distinctness of *Apis mellifera* L. populations from the Canary Islands. **Molecular Ecology** **10**: 1733-1742.
- Scarpassa, V. M. & Conn, J. E. 2006. Molecular differentiation in natural populations of *Anopheles oswaldoi* sensu lato (Diptera: Culicidae) from the

- Brazilian Amazon, using sequences of the COI gene from mitochondrial DNA. **Genetics and Molecular Research 5**: 493-502.
- Scarpassa, V. M.; Cardoza, T. B. & Cardoso Junior, R. P. 2008. Population Genetics and Phylogeography of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 78**: 895-903.
- Schneider, S.; Roessli, D.; Excoffier, L. 2000. **Arlequin versão 2000: A software for population genetics data analyses**. Genetics and Biometry Laboratory. University of Geneva. Switzerland.
- Serpa, L. L. N.; Monteiro, S. D. B. & Voltolini, J. C. 2008. Efeito da água de criação larval na oviposição de *Aedes aegypti* em laboratório. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 41**: 515-517.
- Silberbush, A. & Blaustein, L. 2011. Mosquito females quantify risk of predation to their progeny when selecting an oviposition site. **Functional Ecology 25**: 1091-1095.
- Simon, C.; Frati, F.; Beckenbach, A.; Crespi, B.; Liu, H. & Flook, P. 1994. Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. **Annals of the Entomological Society of America 87**: 651-701.
- Staden, R.; Beal, K. F. & Bonfield, J. K. 1992-2002. Website: <http://staden.sourceforge.net>. Acesso em: Junho/2011.
- Stav, G.; Blaustein, L. & Margalith, J. 1999. Experimental evidence for predation risk sensitive oviposition by a mosquito, *Culiseta longiareolata*. **Ecological Entomology 24**: 202-207.

- Steffan, W. A. & Evenhuis, N. L. 1981. Biology of *Toxorhynchites*. **Annual Review of Entomology** **26**: 158-181.
- Sunahara, T.; Ishizaka, K. & Mogi, M. 2002. Habitat size: a factor determining the opportunity for encounters between mosquito larvae and aquatic predators. **Journal of Vector Ecology** **27**: 8-20.
- Tajima, F. 1989. Statistical Method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics** **123**: 585-595.
- Taylor, C.; Touré, Y. T.; Carnahan, J.; Norris, D. E.; Dolo, G.; Traoré, S. F.; Edillo, F. E. & Lanzaro, G. C. 2001. Gene Flow Among Populations of the Malaria Vector, *Anopheles gambiae*, in Mali, West Africa. **Genetics** **157**: 743-750.
- Thompson, J. D.; Gibson, T. J.; Plewniak, F.; Jeanmougin, F. & Higgins, D. G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Research** **25**: 4876-4882.
- Trexler, J. D.; Apperson, C. S.; Gemeno, C.; Perich, M. J.; Carlson, D. & Schal, C. 2003. Field and Laboratory Evaluations of Potential Oviposition Attractants for *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). **Journal of the American Mosquito Control Association** **19**: 228-234.
- Versteirt, V.; Schaffner, F.; Garros, C.; Dekoninck, W.; Coosemans, M. & Van Bortel, W. 2009. Introduction and Establishment of the Exotic Mosquito Species *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) in Belgium. **Journal of Medical Entomology** **46**: 1464-1467.
- Vinogradova, E. B.; Shaikovich, E. V. & Ivanitsky, A. V. 2007. A study of the distribution of the *Culex pipens* complex (Insecta: Diptera: Culicidae)

- mosquitoes in the European part of Russia by molecular methods of identification. **Comparative Cytogenetics** 1: 129-138.
- Wright, S. 1978. **Evolution and the Genetics of Populations: Variability Within and Among Natural Populations**, vol. 4, University of Chicago Press, Chicago. 590p.
- Yan, G.; Chadee, D. D. & Severson, D. W. 1998. Evidence for Genetic Hitchhiking Effect Associated With Insecticide Resistance in *Aedes aegypti*. **Genetics** 148: 793-800.
- Zar, J. H. 1996. **Biostatistical analysis**. Prentice-Hall International Editions, New Jersey. 170p.
- Zequi, J. A. C. & Lopes, J. 2001. Culicideofauna (Diptera) encontrada em entrenós de taquara de uma mata residual na área urbana de Londrina, Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 18: 429-438.
- Zhang, D. & Hewitt, G. M. 1996. Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers. **Tree** 11: 247-251.
- Zhao, L.; Pridgeon, J. W.; Becnel, J. J.; Clark, G. G. & Linthicum, K. J. 2008. Cytochrome c Gene and Protein Expression: Developmental Regulation, Environmental Response, and Pesticide Sensitivity in *Aedes aegypti*. **Journal of Medical Entomology** 45: 401-408.
- Zsemlye, J. L.; Hancock, R. G. & Foster, W. A. 2005. Analysis of a complex vertical copulatory-courtship display in the yellow fever vector *Sabethes chloropterus*. **Medical and Veterinary Entomology** 19: 276-285.